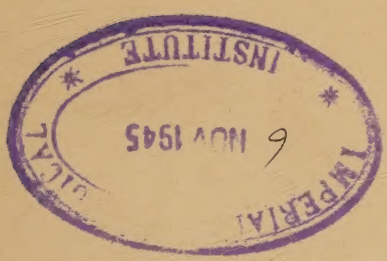
АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

MICROBIOLOGY

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XIV. ВЫП. 4



ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА
1945

МИКРОБИОЛОГИЯ

Ответственный редактор чл.-корр. Академии Наук СССР Б. Л. Исаченко

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, А. А. Имшенецкий,

Я. И. Раутенштейн, В. Л. Рыжков, В. О. Таусон,

Ф. М. Чистяков, В. Н. Шапошников

MICROBIOLOGY

EDITORIAL BOARD:

A. F. Woitkewich, A. A. Imšenecki,

B. L. Issatchenko (Editor), J. I. Rautenstein,

V. L. Rischkow, W. O. Tausson, F. M. Tchistiakov,

W. N. Schaposchnikov

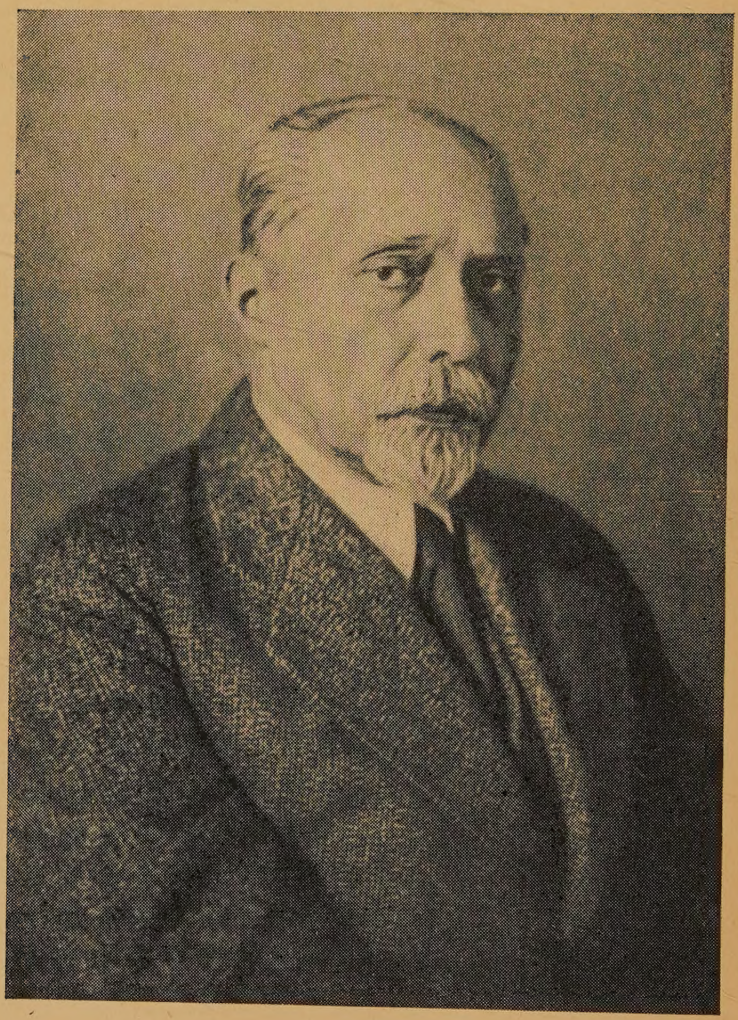
Адрес редакции: Москва, 71, Б. Калужская, 33,
Институт микробиологии Академии Наук СССР

Зам. ответственного редактора *А. А. Имшенецкий*

А17561 Подписано к печати 26/VII 1945 Объем 5½ печ. л.+2 вклейки 9 уч-изд. л.
Тираж 2500 экз. Цена 8 руб. Зак. 469.

2-я типография Издательства Академии Наук СССР, Москва, Шубинский, 10

Printed in Soviet Union



Б. Л. ИСАЧЕНКО

БОРИС ЛАВРЕНТЬЕВИЧ ИСАЧЕНКО

В 1895 году была опубликована первая научная работа Б. Л. Исаченко. 50 лет научной деятельности первого в Союзе исследователя в области общей микробиологии и естественного преемника наследия выдающихся русских исследователей С. Н. Виноградского и В. Л. Омелянского — большое и радостное событие для советской микробиологии.

С именем Б. Л. Исаченко связано возникновение оригинального направления в микробиологии, выясняющего роль микроорганизмов в круговороте веществ. Его классические исследования по микробиологии северных морей приобрели мировую известность и служат справочником для всех микробиологов, работающих в этой области. Б. Л. Исаченко проведено шесть арктических экспедиций и в будущем году исполняется сорок лет изучения им Арктики.

Исключительно большое значение имеют также его исследования по микрофлоре грязевых озер. Они впервые позволили дать полную картину разнообразных превращений азота, углерода и серы, происходящих в озерах и вызываемых микроорганизмами. Работы Б. Л. Исаченко по геологической микробиологии представляют собой образцы классических исследований, которые привлекают внимание не только микробиологов, но также биологов, гидробиологов и геохимиков.

Борис Лаврентьевич — автор свыше двухсот научных работ, и его интересы исключительно разносторонни. Им опубликованы работы, посвященные цитологии грибов, фитопатогенным грибам, бактериальным удобрениям, борьбе с грызунами, светящимся бактериям, биологической коррозии бетона, пурпурным серобактериям и т. д. Все эти исследования объединяет широкий общебиологический подход к проблеме — они принадлежат перу выдающегося ботаника-микробиолога и крупного натуралиста.

Развитие русской и советской микробиологии неразрывно связано с деятельностью Б. Л. Исаченко. Его заслуги нашли себе признание в том, что ему за научные работы был присужден ряд премий, его именем назван ряд микроорганизмов и остров в Карском море. Он был избираем вице-президентом международных конгрессов.

Мы вправе сказать: *In tenui labor — at tenuis non gloria.*

Пятидесятилетний юбилей нашего ответственного редактора застает его полным сил и бодрости. Пожелаем дорогому Борису Лаврентьевичу еще на долгие годы здоровья и плодотворной работы для дальнейшего расцвета советской науки на благо нашей Родины.

Редколлегия

ПОНЯТИЕ О ВИДЕ У НИЗШИХ РАСТЕНИЙ

Л. И. Курсанов

Теория вида, более или менее разработанная у цветковых растений (Комаров, 1940), у низших — остается почти совсем не разработанной. Также и практика выделения часто не одинакова в той и другой группах.

Возможно, что эти причины лежат в основе широко распространенного мнения о принципиальном различии видов в разных крупных систематических категориях. В этом направлении, например, неоднократно высказывался Ячевский, утверждавший, что виды грибов совсем иные, чем виды цветковых растений. Пожалуй, еще более распространено такое мнение относительно бактерий.

Настоящая статья представляет попытку несколько осветить этот вопрос о единстве или принципиальных различиях видов в разных группах.

Известно, что и у цветковых растений виды, хотя и признаются принципиально сходными, но тем не менее практически имеют не всегда одинаковое содержание. Мы знаем виды становящиеся, установившиеся, исчезающие, мономорфные, полиморфные, хорошие, дурные и т. д. Здесь имеется известная неравноценность по существу, понятная, если исходить из принципиального представления о виде как об отрезке на данное время эволюционного потока поколений.

В других случаях мы имеем различия более субъективного характера, обусловленные разными требованиями к виду со стороны разных исследователей, например флористов и монографов-систематиков, исследователей культурных и диких растений и пр. Сказываются и прямо личные взгляды автора относительно объема вида: одни («дробители») предпочитают выделять в особые мелкие виды (Жорданоны) то, что другие («объединители») понимают как разновидности и формы более крупного вида (Линнеона).

Наконец, так как вид есть достаточно сложное и многогранное понятие, то разные разделы биологии склонны бывают выдвигать в нем на первый план более близкие им стороны. Последнее, например, прекрасно иллюстрируется «симпозием» о виде, опубликованном в Американском ботаническом журнале в 1923 г. Там четыре автора (морфолог, физиолог, генетик и фитопатолог) дали каждый столь различные определения вида с точки зрения своей науки, что получается впечатление, как будто речь идет о совсем разных явлениях.

Что же особого в видах низших растений? Это можно подметить отчасти из методов их выделения.

Классический морфолого-географический метод для цветковых растений, кратко характеризуемый афоризмом Комарова «вид есть морфологическая система, помноженная на географическую определенность», применяется и для низших растений. Между тем их морфология (статическая морфология взрослой особи) часто очень бедна, а география слишком мало разработана и кажется не очень перспективной ввиду широко распространенного здесь космополитизма. Понятно, что при этих условиях произведение двух малых величин (морфология × география) оказывается довольно легковесным. Однако очень

большое число видов низших растений выделялось и выделяется именно этим методом, при том часто по консервированному материалу, без учета наследственного постоянства подмеченных черт. Понятно, что такие «гербарные» виды низших растений в дальнейшем создают нередко бесконечную досадную синонимику. Во всяком случае они обычно значительно уступают в надежности таким же «гербарным» видам цветковых растений, так как там и морфология богаче, и изменчивость более определенна, и география дает больше.

Таким образом нужно признать, что указанные «особенности» видов низших растений довольно плохо рекомендуют нашу науку, но они не принципиальны, а только количественны.

Наряду с указанными элементарными методами выделения видов у низших растений практикуются, конечно, и другие, более тонкие и связанные большею частью с экспериментальной культурой организмов.

Из них прежде всего метод онтогенеза, играющий здесь несравненно бо́льшую роль, чем при выделении видов цветковых растений. В этом, как кажется, большое наше преимущество, при том не только методическое, но и методологическое: изучая организмы как ряды закономерно сменяющихся стадий, мы не только обогащаем морфологию их взрослого состояния, но и группу их, объединяемую в вид, яснее воспринимаем как историческое явление.

Познание особи, а отсюда и познание вида при помощи метода онтогенеза получило безусловно доминирующее положение в некоторых группах низших растений. Таковы особенно примитивные группы из Flagellatae, зеленых и разножгутиковых водорослей, а также простейшие грибы. С другой стороны, как кажется, несоответственно мало применяется онтогенетический метод для изучения бактерий. Правда, простота и однообразие строения и развития большинства их делают, как будто, мало перспективным здесь этот метод. Однако возможно, что это и не так. Если учение о циклогении в целом и кажется довольно фантастичным, то отдельные факты, на которых оно основывается, нельзя просто отбрасывать. Во всяком случае у высших бактерий (трихобактерий, миксобактерий) имеется достаточно сложный и характерный цикл развития, чтобы применить к ним метод онтогенеза. Для иллюстрации здесь можно привести следующий пример. Сейчас в бактериологии ведутся споры относительно железобактерий в связи с ревизией вопроса об их хемосинтезе. Вопрос — физиологический и несомненно важный, но он в данном случае упирается в частный вопрос о виде: какие виды были изучены Виноградским и другими авторами, показывающими наличие здесь хемосинтеза, и какие имеются у Калиненко, отрицающего хемосинтез? Между тем, сравнение здесь по существу невозможно: в первом случае имеются «гербарные» виды, установленные давно и только на основании размеров и отчасти строения железистого чехла (как Leptothrix ochracea Kützing), а во втором — мы имеем виды, достаточно хорошо охарактеризованные каждый своим онтогенезом.

У более крупных и сложных высших грибов, водорослей и лишайников метод онтогенеза мало применяется при изучении вида. Отчасти это объясняется может быть трудностью культивирования и довольно полноценной морфологией этих большею частью макроскопических форм, что как будто оправдывает попытки обойтись без онтогенеза. Однако необходимо отметить, что такие попытки могут приводить к серьезным ошибкам. Достаточно указать здесь на примеры трюфелевых грибов, всю систематику которых пришлось переделывать после того, как Э. Фишер применил к ним онтогенетический метод. То же самое можно сказать о роде Endogone, который после онтогенетическо-

го изучения, произведенного Бухгольцем, пришлось перенести из аскомицетов в зигомицеты, а видам этого рода, описанным ранее,— придать значение лишь стадий развития (половая и бесполая стадии).

Экспериментальная культура, довольно хорошо разработанная для низших растений и связанная часто с изучением онтогенеза, может и без этого сама по себе давать ценные результаты для познания вида, надежно освещая явления наследственности и изменчивости признаков, влияния на это внешних условий и пр. Такие культуры применяются широко не только в бактериологии и микологии, но и в альгологии (работы Бейеринка, Артари, Троицкой, Чурда и др.).

Цитологическое изучение, столь важное для понимания онтогенеза, само по себе до сих пор мало дало положительных результатов в изучении вида. Впрочем, как будто некоторые перспективы здесь имеются. Так довольно вероятно, что виды в большом и трудном роде Spirogyra располагаются в генетические ряды, возникающие на почве полиплоидии, т. е. здесь можно уже судить и о генезисе видов. В трудном роде Oscillatoria по имеющемуся небольшому опыту удавалось различать близкие виды по строению центрального тела. То же, может быть, возможно и для некоторых бактерий.

Что касается генетики, приобретающей такое важное значение в экспериментальной систематике цветковых растений, то у низших растений ее значение до сих пор более ограничено. Правда, имеется ряд прекрасных генетических исследований, произведенных над объектами из низших растений (работы Винге, Линдгрина, Бёллера, Мёвуса и др.), но они больше освещают некоторые общие положения генетики, чем уточняют интересующее нас здесь понятие вида. Однако в отношении паразитных грибов здесь имеются уже существенные достижения (см. ниже).

Наконец, о значении экологических и физиологических свойств для характеристики вида низших растений. У цветковых растений они имеют в этом отношении сравнительно подчиненное значение и используются обычно для характеристики не столько видов, сколько разновидностей и форм. У низших растений — неизмеримо большее разнообразие физиологических свойств, при том как раз они часто имеют для нас наибольшее значение и поэтому наилучше изучены. Ввиду этого кажется вполне допустимым придавать больше веса физиологическим свойствам в характеристике вида у низших растений, особенно у наиболее разнообразных и важных гетеротрофных. Что же касается зеленых автотрофов, то они в этом отношении стоят примерно рядом с цветковыми растениями и, если характеризуются дополнительно с экологической стороны, то большею частью только указанием на местообитание (зоны опробности, солоновидность и пр.).

Переходя теперь к гетеротрофам, нужно отметить, что едва ли здесь, в журнале «Микробиология» имеется надобность доказывать специальное значение физиологических свойств для классификации бактерий и дрожжей, но тем более нужно остановиться на паразитных грибах, так как их экология дает много новых отправных точек для концепции вида.

Во-первых, здесь ясно устанавливается, что по мере эволюции паразитизма происходит его бо́льшая специализация, т. е. суживается круг пораженных растений до одного рода и даже немногих видов его. Это указывает на параллельную эволюцию паразита и хозяина и позволяет судить о степени близости (родстве) форм паразита на основании близости питающих растений. Возможно и обратное суждение о родстве хозяев на основании родства их паразитов. Конечно, эта паразитологическая концепция вида по существу не нова, но существенно, что у

паразитных грибов мы имеем наиболее обильный и доказательный материал в этом направлении.

Во-вторых, у паразитных грибов особенно хорошо выявляется сложное построение вида (вид как система). Известно не мало видов высоко приспособленных обязательных паразитов из ржавчинных, мучнерос-ных и др., которые, как бы вопреки правилу об узкой специализации, поражают десятки и сотни видов цветковых растений из разных родов, хотя большею частью из одного семейства. Оказывается, что виды таких паразитов слагаются сами из многих мелких слабо различимых морфологически, но наследственно постоянных единиц, имеющих каждый уже свою узкую специализацию.

Так, например, вид Peronospora parasitica распадается приблизительно на 60 таких единиц или физиологических рас. Еще более сложная система выясняется у некоторых ржавчинных грибов. Например, вид Puccinia graminis, указанный более чем на сотне злаков, распадается приблизительно на 10 так называемых специальных форм, заражающих каждая представителей небольшого числа родов или даже одного рода, а специальные формы в свою очередь распадаются на более мелкие физиологические расы или биотипы, которые совсем не отличимы морфологически, но резко различаются физиологически по отношению к разным видам и даже сортам злаков. Число таких биотипов может быть весьма значительным, например, в специальной форме Tritici вида Pucc. graminis их установлено больше 150.

Таким образом вид Puccinia graminis выявляется как сложная система многих сотен соподчиненных более мелких единиц, которые можно толковать как зачатки новых видов, возникающих из одного первоначального. Интересно, что и у мало приспособленных, так сказать, начинающих полупаразитов, как Botrytis cinerea, Pythium de Baryanum и др., обнаруживаются аналогичные узко специализированные физиологические расы так, что принимавшаяся раньше полифагия соответственных видов оказалась только кажущимся явлением. Все это указывает на то, что процессы усиленного видообразования у паразитивных грибов могут иметь место не только на верхних ступенях далеко эволюционировавшего паразитизма, но и в самом начале его (у полупаразитов).

Представляет большой интерес вопрос о путях возникновения физиологических рас или зачатков новых видов у паразитных грибов. Раньше эти пути видели в постепенном привыкании гриба к тому или иному субстрату, но в настоящее время работами Стекмена, Гаммарлунда, Ньютона и др. доказано, что постепенного привыкания здесь нет, а новые физиологические расы возникают внезапно путем мутаций или гибридизаций между ранее существовавшими. Такие явления наблюдались как в сапрофитной культуре, так и в экспериментальных культурах на опытных растениях.

Особенно ясно показано гибридное происхождение биотипов и отчасти специальных форм у ржавчинных грибов, где соответственные скрещивания обеспечиваются в природе своеобразной энтомофилией и гетероталлизмом, открытыми в этой группе Креги.

Таким образом и по вопросу о составе и происхождении вида паразитные грибы дают не мало нового и важного. Хотя самая концепция о виде как системе более мелких категорий зародилась не здесь, но существенно, что здесь она может быть углублена и яснее показана благодаря тому, что эти мелкие категории (биотипы) здесь отличаются вполне объективными и ясными физиологическими свойствами. Очень существенно также экспериментальное доказательство путей возникновения биотипов как зачатка новых видов.

Подводя итоги по поставленному вопросу в целом, можно сказать,

что представления о принципиальном различии видов у низших растений по сравнению с высшими едва ли оправдываются. Имеющиеся различия здесь зависят главным образом от тщательности изучения, которое у низших растений значительно слабее (за исключением паразитных грибов).

Если принципиально виды одинаковы, то и подход и тщательность выделения должны быть одинаковыми во всех группах, хотя методы могут быть различными в связи с особенностями объекта. Между тем практически часто бывает как раз обратное: одинаковые методы, но разная степень тщательности. Так, для цветковых растений основным является морфолого-географический метод; он дает там неплохие результаты. То же автоматически переносится и на низшие растения, хотя этого явно недостаточно по особенностям объекта. В результате творится много сомнительных «гербарных» видов низших растений. Между тем, следовало бы использовать методы, требуемые объектом. В частности для низших растений важны экспериментальная культура и метод онтогенеза, но они мало используются истыми систематиками, предпочитающими гербарий. Также имеются трудности с важной нередко физиологической характеристикой вида. Систематику она недоступна, а физиолог не имеет систематического вкуса. В результате получаются неполноценные описания видов, что создает трудности их различения.

Наконец, едва ли можно согласиться со стремлением обязательно выделять как новые виды все, что хотя чем-нибудь отличается от ранее описанного. Однако это стремление довольно широко представлено именно для низших растений, может быть потому, что здесь вообще описано много неполноценных видов и несколько лишних не испортят общего фона. Идя по линии наименьшего сопротивления, гораздо легче некритически описать новый вид, чем произвести тщательное критическое сравнение своего материала с близкими, ранее описанными видами.

Получено 23.V. 1945

О ВОЗДУШНОМ ПИТАНИИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Н. Г. Холодный

I

Вопрос о питании микроорганизмов почвы летучими и газообразными органическими и неорганическими соединениями, содержащимися в почвенной атмосфере, на первый взгляд не представляет значительного интереса. В самом деле, мы привыкли думать, что во всякой почве, содержащей достаточное количество влаги и питательных веществ, чтобы поддерживать жизнь высших растений и разнообразных представителей микрофлоры, эти последние обитают главным образом в жидкой среде — в почвенном растворе. Следовательно, органические и неорганические вещества, содержащиеся в почвенном воздухе в газообразном состоянии, раньше чем проникнуть в клетки микробов, должны раствориться в окружающей их жидкости. Значит, где бы в почве ни находились вещества, пригодные для питания микроорганизмов, механизм их поступления в клетки почвенных микробов всегда может быть сведен к явлениям диффузии и осмоса в жидкой среде. Такие соображения высказывал С. Н. Виноградский (в частном письме), когда я познакомил его с данными, полученными в опытах культивирования нитрифицирующих микробов на кремнекислом геле, не содержащем аммонийных солей, за счет свободного аммиака атмосферы (Холодный, Смалий и Пиковская, [2]).

Не подлежит сомнению, что в указанном случае, как и в некоторых других, поступление питательных веществ из почвенной атмосферы в клетки микроорганизмов может происходить после предварительного растворения их в окружающей жидкой среде. Однако едва ли можно согласиться с утверждением, что такой способ проникновения этих веществ в клетки является единственным возможным и что, следовательно, не может быть и речи о поглощения микробами газообразных веществ прямо из воздуха, без предварительного растворения их в окружающей жидкости.

Против такого утверждения можно привести ряд доводов, основанных на опыте и наблюдениях.

Прежде всего необходимо иметь в виду, что почва не всегда содержит такое количество влаги, которое обеспечивало бы достаточно быструю и бесперебойную циркуляцию почвенного раствора в различных направлениях. При малом содержании воды, когда вся она прочно удерживается силами прилипания или связана коллоидами почвы, массовые перемещения почвенного раствора почти прекращаются, и снабжение неподвижных почвенных микробов необходимыми им питательными веществами из этого раствора может происходить только медленным путем диффузии. В этих условиях особенно большое значение должны приобретать легкоподвижные летучие и газообразные соединения, свободно переносимые с места на место внутрипочвенными воздушными течениями. Приходя в непосредственное соприкосновение с поверхностью микробных клеток, молекулы этих соединений могут беспрепятственно проникать в их протоплазму и подвергаться здесь различным превращениям.

Эти соображения покажутся нам еще более убедительными, если мы обратимся к тем данным о распределении микроорганизмов в почве, которые получены путем исследования почвенной микрофлоры методами прямого наблюдения ее in situ с помощью пластинок обрастания, почвенных камер и проращивания почвенной пыли на чистом стекле. Изучение препаратов, приготовленных всеми этими методами, убеждает нас в том, что главная масса почвенных микроорганизмов располагается на поверхности твердых минеральных и коллоидных частичек почвы таким образом, что значительная часть их поверхности всегда омывается токами циркулирующего в почве воздуха. Особенно эффектны в этом отношении картины, наблюдаемые в почвенных камерах: оказывается, что даже большие внутрипочвенные полости в течение короткого времени заселяются различными микроорганизмами, и скоро их во всех направлениях пересекают гифы грибов и актиномицетов, часто несущие на своей поверхности клетки разнообразных бактерий. У всех этих микроскопических живых существ здесь отчетливо проявляется нечто вроде аэротропизма, стремления расположиться таким образом, чтобы поверхность соприкосновения их клеток с почвенной атмосферой достигла наибольшей возможной величины. Можно было бы сказать, что между почвенными микроорганизмами идет борьба не только за воду, но и за воздух. Весьма вероятно, что большую роль во всех этих явлениях играет потребность аэробных микробов в кислороде воздуха, но возможно, что еще большее значение следует приписать «погоне» за дополнительным источником питания — содержащимися в почвенной атмосфере летучими и газообразными органическими веществами.

Этот первый довод в пользу возможности воздушного питания почвенных микробов имеет экологический характер. Но с той же экологической точки зрения можно выдвинуть и возражение, указавши, что почвенная атмосфера едва ли содержит когда-либо столько питательных веществ, чтобы они могли иметь серьезное значение как источник пластического и энергетического материала для обитающих в почве микроорганизмов.

До последнего времени это возражение могло казаться довольно убедительным. В самом деле, единственным источником летучих веществ, пригодных для питания микроорганизмов в почве, приходилось считать процессы разложения животных и растительных остатков. Однако, благодаря быстрой их минерализации, летучие и газообразные соединения, поступающие в воздух при этих процессах, имеют сравнительно простое строение, содержат мало энергии и не могут считаться ценным источником питания для большинства обитающих в почве микробов. Таковы водород, сероводород, метан, аммиак, азот и др. Органические соединения более сложного состава выделяются в воздух в значительно меньших количествах, так как все более ценное из них улавливается и потребляется микробами, вызывающими разложение, и их спутниками на месте, непосредственно в очагах распада животных и растительных остатков.

Исследованиями, проведенными мною в 1939—1943 гг., было обнаружено еще одно любопытное и широко распространенное явление, которое, повидимому, можно считать более обильным источником пополнения запаса органических веществ в почвенной атмосфере. Оказалось, что многие, а может быть, даже и все органы высших растений, в том числе и подземные, в определенные периоды своего развития выделяют летучие органические соединения более или менее сложного состава. Особенно резко это явление выражено у прорастающих семян, причем семена, богатые белковыми соединениями, повидимому, выделяют в воздух вещества, содержащие азот. Эти летучие секреты растений, как показали многочисленные опыты, могут служить отличным

источником питания для самых разнообразных почвенных микроорганизмов.

Таким образом в настоящее время не приходится больше сомневаться в том, что почвенная атмосфера обычно содержит некоторое количество фитогенных органических примесей, вполне пригодных для питания бактерий, грибков, актиномицетов и других представителей почвенной микрофлоры.

Замечательно, что пары некоторых органических соединений, нерастворимых в воде, легко поглощаются из воздуха различными почвенными микроорганизмами. Нафталин, например, является превосходным источником питания для многочисленной группы почвенных бактерий, которые в присутствии паров этого вещества быстро растут на поверхности субстрата, содержащего только минеральные соединения. Это наблюдение наводит на мысль, что поглощение из воздуха нерастворимых в воде органических веществ осуществляется при помощи липоидной фазы клеточной поверхности, способной пропускать в клетку вещества, которые не могут проникнуть туда вместе с водой. Не трудно видеть также, что усвоение из воздуха значительных количеств нафталина и других нерастворимых в воде соединений возможно только в том случае, если поглощающая поверхность бактериальных клеток свободно соприкасается с окружающей атмосферой и не отделена от нее сплошной водной пленкой.

II

Неизвестная раньше способность очень многих почвенных микроорганизмов поглощать из воздуха и усваивать самые разнообразные летучие органические соединения может быть использована для экспериментальных исследований в различных направлениях. Прежде всего она дает нам возможность пользоваться этими микроорганизмами как индикаторами на присутствие в воздухе органических примесей, даже при ничтожном их содержании в нем. Методика такого рода исследований не представляется сложной, но в деталях ее предстоит еще разработать. Наиболее простой и удобный прием состоит в применении препаратов почвенной пыли, проращиваемой на чистом стекле (Холодный [1]). Сухая почва просеивается через металлическое ситечко с очень мелкими отверстиями над поверхностью предметного или покровного стекла, а затем такое запыленное стекло помещается во влажную камеру. Если воздух этой камеры содержит какую-либо органическую примесь, то преобладающее развитие на препаратах получают те микроорганизмы, которые способны данное вещество поглощать и усваивать. Разрастаясь по поверхности стекла, в промежутках между почвенными частицами, эти микробы образуют более или менее крупные колонии, которые доступны дальнейшему исследованию. Этот способ дает возможность обнаружить наличие некоторых, особенно нерастворимых в воде, органических примесей и в наружном воздухе. Для этой цели его после предварительного освобождения от пыли и увлажнения следует медленно пропускать через камеру с препаратом почвенной пыли. Само собой разумеется, что при всех этих опытах необходимо иметь контроль в виде препаратов почвенной пыли того же образца, проращиваемой в чистом воздухе, без каких-либо органических примесей.

Мои опыты, проведенные по этому методу, относятся главным образом к органическим веществам, выделяемым различными растительными органами, которые помещались в ту же камеру, где находились препараты почвенной пыли, и на некотором расстоянии от этих последних. Результаты этих опытов описаны в нескольких уже опубликованных работах (Холодный [3]), и поэтому я не буду здесь на них оста-

навливаться. Но мне хотелось бы указать здесь на несколько вопросов, которые заслуживают дальнейшего изучения и, как мне кажется, могут быть решены с помощью уже испытанных методов и других, разработка которых является задачей ближайшего будущего.

1. Необходимо подвергнуть химическому и биологическому изучению почвенную атмосферу с целью выяснить, какие летучие и газообразные органические вещества в ней содержатся и в каком количестве. Вытесняя воздух из почвы водой и другими жидкостями в условиях вакуума, можно было бы, вероятно, получить образцы почвенной атмосферы в количестве, достаточном для дальнейшего исследования. При этом, конечно, в первую очередь должны выделяться газообразные вещества, нерастворимые или плохо растворимые в воде и слабо адсорбируемые почвой. Но как раз эти-то вещества и представляют особый интерес с точки зрения проблемы воздушного питания почвенных микроорганизмов.

Говоря о биологическом исследовании этих веществ, я имею в виду главным образом вопрос о пригодности их в качестве питательного материала для почвенных микробов, а также о влиянии их на физиологические отправления других живых существ, обитающих в земле и над землею. Что далеко не все летучие составные части почвенной атмосферы связываются в процессах адсорбции и растворения, об этом говорит хотя бы хорошо всем известный «запах земли», особенно ясно ощущаемый нами после обильного увлажнения почвы дождем и вытеснения из ее пор части содержащегося там воздуха.

2. Еще больший интерес представляет вопрос о химической природе и о количественном содержании в воздухе различных летучих органических соединений, поступающих в атмосферу главным образом из цветов, листьев, плодов, прорастающих семян, клубней и других частей высших растений. Здесь также необходимо прежде всего чисто химическое исследование, которому должно предшествовать накопление фитогенных органических составных частей воздуха в количествах, достаточных для анализа. Применение активированного угля и других адсорбентов, с последующим отмыванием от них поглощенных из воздуха органических веществ, по всей вероятности, позволило бы сделать первые шаги к решению этой проблемы.

3. В цитированных выше сообщениях я высказал предположение [3], что некоторые из содержащихся в воздухе фитогенных органических веществ, по всей вероятности, играют роль витаминов, которые поступают в организм человека и животных через легкие (атмовитамины). Эта мысль открывает перед нами перспективы, на которых здесь не место останавливаться. Но, быть может, следует все-таки отметить, что и для микроорганизмов, поглощающих эти вещества из воздуха, они могут иметь значение не только строительного или энергетического материала, но и биокатализаторов, ускоряющих и усиливающих различные их жизненные отправления. Среди них могут находиться и ростовые вещества, роль которых в жизни микробов с каждым годом представляется нам все более значительной. На эту сторону дела также следовало бы обратить внимание.

4. Заслуживает еще раз быть отмеченным возможное применение почвенных микроорганизмов в качестве индикаторов на содержание в воздухе органических примесей, а также для первоначальной и приблизительной химической их характеристики. Одни и те же или сходные по своей химической природе вещества — при использовании в качестве индикатора одного и того же почвенного образца — вызывают развитие сходной или даже тождественной микрофлоры. Вызываемые этими веществами изменения pH также отражаются на характере микрофлоры препаратов почвенной пыли.

5. Наконец, нельзя не отметить совершенно неожиданный результат опытов по питанию почвенных микробов летучими органическими выделениями цветов. Оказалось, что в некоторых случаях (например, в опытах со сложноцветными) сходство или различие развивающейся на препаратах микрофлоры может служить указанием на большую или меньшую близость исследуемых растений в систематическом отношении. Это наблюдение может, как мне кажется, послужить исходной точкой для разработки вспомогательного метода при установлении степени родства отдельных видов и родов высших растений,— по крайней мере в пределах одного и того же семейства.

Главная мысль, которая кладется в основу всех вскользь упомянутых здесь, уже выполненных и намеченных на будущее исследований, может быть кратко сформулирована следующим образом. Обмен веществ между всяким живым организмом и окружающей его атмосферой представляет явление несравненно более сложное и многообразное, чем мы до сих пор думали. Большую роль в этом обмене должны играть и содержащиеся в воздухе в ничтожных количествах, но широко распространенные в тропосфере Земли органические (главным образом фитогенные) соединения. Ближайшее изучение этих веществ и их роли в живой природе — одна из очередных задач современной науки. В ее решении должны принять участие и микробиологи.

Выводы

Автор обсуждает условия, при которых почвенные микробы могут извлекать из воздуха необходимые им питательные вещества, указывает на широкое распространение в атмосфере органических веществ, выделяемых высшими растениями, кратко упоминает о результатах своих опытов по питанию почвенных микроорганизмов летучими фитогенными веществами и, в заключение, намечает ряд вопросов в этой области, которые, по его мнению, заслуживают дальнейшего изучения. Он подчеркивает также, что обмен веществ между всяким живым организмом и окружающей его атмосферой имеет более сложный и многообразный характер, чем это думали до сих пор.

Получено 26.V.1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Холодный Н. Г. Микробиология, т. V, вып. 2, стр. 159—166, 1936.
2. Холодный Н. Г., Смалий В. и Пиковская Р. Микробиологический журнал АН УССР, т. 5, № 4, стр. 103—117, 1938.
3. Холодный Н. Г. ДАН, т. XLI, № 9, стр. 416—418, 1943; т. XLIII, № 2, стр. 75—78, 1944; т. XLIII, № 6, стр. 272—275, 1944; Изв. Акад. Наук Арм. ССР, № 3, стр. 31—41, 1944.

THE AERIAL NUTRITION OF SOIL MICROORGANISMS

N. G. Cholodny

Summary

The author discussses the conditions under which soil microbes are able to extract from the air the nutrient substances required by them. He points out that in the air are widespread organic substances given off into the atmosphere by higher plants and describes summarily the results of his experiments with feeding soil microbes by volatile phytogenic substances. In conclusion he indicates a number of problems in this field which, in his opinion, deserve further investigations. He emphasizes also that the metabolic exchange of substances between every live organism and the surrounding atmosphere is much more complex and manysided than it was thought earlier.

О НЕСОВЕРШЕННЫХ ФОРМАХ МИКСОБАКТЕРИЙ

А. А. Имшенецкий и *Л. И. Солнцева*

Бактерии — организмы несомненно полифилетического происхождения. Микробиолог изучает живые существа, далеко отстоящие друг от друга в филогенетическом отношении. Достаточно указать на спирохеты и кокки или бациллы и миксобактерии. Отсутствие палеомикробиологической летописи, сравнительно однообразная морфология, почти полное отсутствие данных о приспособительном значении морфологических и физиологических признаков и ряд других причин затрудняют создание естественной системы микроорганизмов.

Хорошо очерченные систематические группы микробов принадлежат к относительно сложно организованным «высшим» бактериям. Это относится к Myxobacteriales, Actinomycetales, Trichobacteriales и Spirochaetales. В противоположность этому более примитивные «истинные» бактерии (Eubacteriales) не занимают такого обособленного положения. Здесь объединены микроорганизмы с самой различной морфологией и жизненным циклом, не говоря уже о физиологических признаках. В связи с этим интересно выяснение связей, существующих между Eubacteriales и высшими микробами, обладающими более сложной структурой и историей развития. Установление таких связей, возможно, позволит обнаружить между ними родство и тем самым уменьшить число бактерий, относимых к Eubacteriales.

Констатировать генетическое родство, основанное на общности морфологических признаков, несложно. Сравнительная морфология в этом случае дает безупречные доказательства и разногласий обычно не бывает. Гораздо труднее говорить о генетических связях физиологического характера. Здесь меньше бесспорных фактов и многое зависит от субъективных взглядов исследователя. Разрабатывая схемы, иллюстрирующие связь между различными физиологическими и биохимическими особенностями микроорганизмов, нередко исходят только из химизма процессов, недооценивая экологическое значение разбираемых физиологических признаков и их роль в эволюции.

Сравнительный метод в морфологических исследованиях легко выясняет филогенетические связи. Особенно детально этот вопрос разработан в отношении Actinomycetales, где установлено постепенное усложнение строения и истории развития у представителей различных родов (Lehmann и Neumann [16], Lieske [17], Jensen [10, 11, 12], Красильников [5]).

Естественно, что выяснение родства и даже построение стройного ряда, состоящего из все более и более усложняющихся форм, еще не выясняет направления этих изменений. Происходило ли в процессе эволюции усложнение организации или, наоборот, изменения носили регрессивный характер? Как и обычно в биологии, этот вопрос не имеет общего решения. По отношению к каждой систематической группе его приходится решать отдельно, но нужно сказать, что широко распространенная тенденция рассматривать бактерии как деградировавшие существа далеко не всегда достаточно обоснована. Этому, между прочим, противоречат и некоторые наблюдения по экспериментальной изменчивости микроорганизмов. Так известно образование рас с значительно более сложным циклом развития, чем исходная форма,

и едва ли такие изменения могут носить только атавистический характер. Упрощение или усложнение строения и истории развития неизбежно сопровождалось перестройкой физиологии, но только тогда, когда будет понято значение этих изменений в борьбе за существование, только тогда будет понят их действительный смысл.

В этой статье изложены некоторые данные о систематике миксобактерий, имеющие непосредственное отношение к затронутой выше проблеме. Предварительно кратко об истории вопроса.

В 1919 г. Hutchinson и Clayton [8] описали под именем Spirochaeta cytophaga аэробный микроорганизм, разлагающий целлюлозу с образованием желтых пятен. Его жизненный цикл был весьма своеобразным, так как вегетативные клетки превращались в шаровидные покоящиеся формы.

Виноградский, описывая почвенные целлюлозные бактерии, указал, что этот микроб ничего общего со спирохетами не имеет и, создав новый род Cytophaga, описал ряд относящихся к нему видов. Шаровидные микроцисты ошибочно были им приняты за посторонние кокковидные бактерии.

История развития Cytophaga была затем изучена Krzemieniewska [14, 15], которая доказала, что постепенное сокращение удлиненных клеток приводит к образованию покоящихся стадий (микроцист). Жизненный цикл организма весьма напоминал миксококков, и поэтому он был переименован в Cytophaga myxococcoides.

Впервые биологию и историю развития Cytophaga у нас в Союзе изучили Исаченко и Вакенгут, описавшие сложный цикл развития.

В 1936 г. мы выделили из почвы два вида Cytophaga, разлагавших клетчатку. Один из них соответствовал виду, описанному Hutchinson и Clayton, т. е. давал шаровидные микроцисты и разлагал целлюлозу с образованием желтого пигмента. Другой вид был новым и имел овальные микроцисты и оранжевый пигмент. История развития обоих так напоминала миксококков, что мы, несмотря на отсутствие плодовых тел, назвали первый вид Myxococcus Hutchinsonii, а второй Myxococcus ellipsosporus. Последний был затем выделен Jensen [13] в Австралии из почвы.

Наряду с формами, образующими микроцисты, нами были выделены виды, которые не давали их совершенно. Такие амикроцистные формы, обладающие различными пигментами, были также изолированы Виноградским, а также Stapp и Bartels [20]. Эти виды тоже разлагали целлюлозу и по форме своих вегетативных клеток очень напоминали Myxococcus (Cytophaga), дающие микроцисты. Мы высказали предположение о генетической связи амикроцистных форм с видами, образующими микроцисты, и отнесли их все к миксококкам. Таким образом можно было говорить о типичных миксококках, имеющих плодовые тела и микроцисты, миксококках, не имеющих плодовых тел, но дающих микроцисты, и, наконец, о наиболее примитивных миксококках, лишенных того и другого.

С нашим предложением отнести Cytophaga, дающие микроцисты, к миксококкам, полностью согласился Stainier [18, 19], опубликовавший ряд работ о миксобактериях. Однако, ввиду отсутствия плодовых тел, он предложил создать для них в семействе Myxococcaceae новый род Sporocytophaga, состоящий из двух видов. Что же касается видов Cytophaga, не образующих микроцисты, то Stainier выделил их в отдельное семейство Cytophagaceae, к которому относятся шесть видов, образующих желтый, оранжевый, красный, зеленый или черный пигменты. Они отличаются друг от друга также по величине своих клеток и способности утилизировать различные, помимо клетчатки, углеводы. Все эти виды объединяют две особенности: 1) они не образуют микро-

цист, т. е. их длинные, с заостренными концами клетки не превращаются путем сжатия в шаровидные или овальные клетки покоя; 2) они не дают плодовых тел. Следовательно, эта группа миксобактерий имеет наиболее примитивную историю развития.

Уже давно наше внимание привлекали миксобактерии, мало похожие на «высших» представителей этой систематической группы. Этим формам и посвящена данная статья.

Признаки миксобактерий

Как известно, наиболее характерная особенность миксобактерий заключается в их способности давать плодовые тела. Последние бывают самой различной окраски и формы. Они могут иметь шаровидную форму и состоять из микроцист, иметь грибовидные очертания или напоминать по своему виду кораллы. Именно эти причудливые образования привлекали главным образом внимание ботаников, и изображения плодовых тел миксобактерий фигурируют в учебниках микробиологии. Изучение миксобактерий вначале проводилось преимущественно ботаниками путем собирания растительных остатков, навоза, лишайников и т. п., на поверхности которых обнаруживались плодовые тела. Так описывались новые виды и создавалась систематика миксобактерий, основанная на форме, величине и окраске плодовых тел. О присутствии миксобактерий судили на основании присутствия плодового тела, и поэтому понятно, почему вегетативная стадия, т. е. стадия размножающихся вегетативных палочек, у ряда видов была неизвестна.

В дальнейшем при изучении миксобактерий постепенно начали применяться микробиологические методы исследования. Вместо «гербарного» собирания плодовых тел в природе стали прибегать к посевам почвы и воды на различные питательные среды и изучать не только «статику» и форму плодовых тел, но динамику развития культуры и ее физиологию. Несомненно, что интерес к миксобактериям в значительной мере оживился благодаря открытию многих видов, разрушающих клетчатку в аэробных условиях.

В процессе изучения миксобактерий был разработан ряд способов получения обогащенных и чистых культур, а также подобраны необходимые питательные среды. Описание этих методов было дано в другой работе, и поэтому мы только сошлемся на нее (Солнцева [7]).

Производя посевы почвы, навоза или растительных остатков на плотные среды (например картофельный агар с пептоном), можно в более старых посевах наблюдать появление концентрических кругов, состоящих из плодовых тел оранжевого или коричневого цвета и напоминающих ведьмины кольца. Они обычно образуются на поверхности колоний других бактерий, что, возможно, связано со склонностью миксобактерий к паразитическому образу жизни.

Однако наряду с различными видами Myxococcus, Polyangium, Sorangium и других миксобактерий, образующих ясно выраженные плодовые тела, на чашках нередко вырастают колонии бактерий, которые мы длительное время относили к неспороносным обычным бактериям. Затем возникло предположение, что это также миксобактерии, но не образующие плодовых тел. Следовательно, это формы, лишенные признака, который обычно считается наиболее характерным для миксобактерий. Прецедент в данном случае имелся, так как ранее мы изучали Cytophaga, разлагающие целлюлозу, но не образующие микроцист, в отличие от Sporocytophaga. Однако Cytophaga было легко отличить от обычных неспороносных бактерий, так как их клетки имеют исключительно характерную форму — длинных, слегка изогнутых палочек с заостренными концами. В противоположность этому клетки в колониях, которые привлекли наше внимание, имели форму обыкновенных па-

лочек с закругленными концами, и поэтому при беглом просмотре препаратов эти колонии не относились к колониям миксобактерий.

Плодовые тела в этих культурах отсутствовали независимо от состава питательных сред, и их нельзя было обнаружить на самых различных естественных субстратах: дрожжевой агар, навозный агар, грибной агар (из белых грибов), картофельный агар с пептоном, мясопептонный агар и ряде других сред. Это обстоятельство имело значение, так как существуют указания, что ростовые вещества стимулируют образование плодовых тел (Мишустин [6]). Полное отсутствие плодовых тел наблюдалось сразу после выделения культуры. Следовательно, это явление не было аналогичным, например, потере спорообразования, происходящей у дрожжей при «лабораторной» жизни. По нашим данным, способность у миксобактерий формировать плодовые тела после многолетнего пребывания культуры в лаборатории сохраняется обычно полностью.

Таким образом изолированные культуры миксобактерий не давали плодовых тел. В связи с этим возникла необходимость собрать и сопоставить все признаки миксобактерий, которые позволили бы провести дифференциальный диагноз между ними и Eubacteriales в том случае, если миксобактерии лишены типичной для них истории развития.

Рассмотрим эти признаки.

1. Морфология и история развития. Клетки у миксобактерий, не образующих плодовых тел, т. е. несовершенных форм, могут быть палочковидными и иметь закругленные концы. Они могут быть крупной величины, и тогда их легко отличить от обычных неспороносных форм, но встречаются несовершенные формы и с довольно мелкими клетками. В молодых колониях миксобактерии интенсивно размножаются преимущественно путем перетяжки. При старении культуры клетки несовершенных форм могут укорачиваться и утолщаться. Этот процесс сжатия клеток характерен и может служить для систематических целей, но он неодинаково выражен у различных представителей. Так, у Cytophaga он почти не заметен, тогда как у некоторых палочковидных Promyxobacterium он может быть констатирован.

Среди представителей Myxobacteriales имеются формы, например Sporocytophaga, у которых хроматин в клетке распределен диффузно и дает обособленные структуры только при образовании покоящихся форм (микроцист). Наряду с этим некоторые виды высших миксобактерий имеют обособленные ядра в виде полиморфных структур или круглых образований. Подробнее эволюция ядерного аппарата у миксобактерий освещена в другой работе (Имшенецкий [3]). Совершенно очевидно, что, если при изучении культуры, напоминающей несовершенных миксобактерий, будут обнаружены в клетках обособленные хроматиновые тельца, принадлежность культуры к миксобактериям несомненна. У всех Eubacteriales хроматин распределен в клетке диффузно и они не содержат индивидуализированных ядер. Отсутствие зерен хроматина в клетке не говорит против принадлежности к миксобактериям. В частности у Cytophaga ядерное вещество находится в диффузном состоянии.

Для миксобактерий, в том числе и для несовершенных форм, характерна матовость, гомогенность живых неокрашенных клеток — они слабее преломляют свет, чем истинные бактерии. Последнее, повидимому, объясняется тем, что миксобактерии имеют гораздо более тонкую оболочку, чем другие бактерии. Однако этот признак у несовершенных форм с относительно мелкими клетками выражен менее отчетливо.

Абсолютно доказательным является подвижность клеток изучаемой культуры при отсутствии жгутиков. У некоторых миксобактерий по-

движность лучше изучать, микроскопируя микроколонии на агаровом блоке (пленке агара). Подвижность других форм легко может быть обнаружена там же и в висячей капле. В этом случае можно рекомендовать микроскопию стекла с висячей каплей, помещенного на подогревательный столик,— повышение температуры до известного предела усиливает подвижность клеток. Обнаружить жгутики у миксобактерий не удается ни путем специальных окрасок, ни электронной микроскопией, и, повидимому, подвижность миксобактерий связана с набуханием слизи, выделяемой клеткой, т. е. носит реактивный характер.

2. Морфология колонии. Характер роста несовершенных миксобактерий, имеющих палочковидную форму клеток, не имеет строго специфических черт. Обычно это круглые, гладкие, то более, то менее слизистые колонии, легко снимаемые петлей с поверхности плотных сред. Отметим, что миксобактерии обычно дают колонии, окрашенные в желтый, коричневатый, оранжевый, розовый, красный, зеленый, фиолетовый и другие цвета. Гораздо реже колонии совсем бесцветны. Естественно, что только образование пигмента не решает вопроса, но оно наряду с другими признаками имеет значение.

При микроскопии старых колоний иногда заметны намеки на образование «полей», состоящих из групп клеток, т. е. начало процесса формирования цист и плодовых тел. Такие попытки образования цист иногда обнаруживаются с трудом, а часто их не удается констатировать совершенно.

3. Физиологические признаки. Физиология миксобактерий весьма разнообразна, и поэтому ни один из физиологических признаков не имеет абсолютного значения в их систематике. Можно лишь говорить о некоторых особенностях всей группы в целом. Так, среди миксобактерий доминируют формы, участвующие в разложении растительных остатков и поэтому хорошо утилизирующие различные углеводы, некоторые виды разрушают целлюлозу. Гораздо реже миксобактерии разлагают белки животных, поэтому определенные формы вообще не растут на мясных средах и не обладают протеолитической активностью.

Следует отметить также три черты, общие для всех представителей этой систематической группы. Они все строгие аэробы, имеют сравнительно низкий температурный оптимум роста и обычно хорошо развиваются как в кислых, так и в щелочных средах.

Таким образом бесспорными признаками миксобактерий следует считать: подвижность клеток, не имеющих жгутиков, сжатие, т. е. укорочение и утолщение клеток при старении культуры и присутствие в клетке обособленного хроматинового зерна. Ряд других особенностей, указанных выше, также может быть учтен при выяснении систематического положения микроорганизма.

В процессе работы были выяснены признаки миксобактерий, которые могут быть использованы для их распознавания, даже в том случае, если они не будут иметь типичного сложного цикла развития. Это позволило нам изолировать и изучить ряд культур, которые вначале относились к пигментным неспороносным палочкам, и только после систематических наблюдений была выяснена их принадлежность к несовершенным миксобактериям. Приводим краткое описание только некоторых видов, которые мы объединили в род Promyxobacterium.

Характеристика культур

Promyxobacterium flavum nov. sp.

Перед изучением выделена из одной клетки.

Морфология. Палочка с закругленными концами 0,9 μ × 2,3—5,3 μ. Грамотрицательная. Слизистых капсул нет. Оживленно подвижна. Жгутиков нет. При

старении культуры клетки укорачиваются и утолщаются. Так, в 5-суточной колонии размер клеток 0,75—1,05 μ × 2,25—3μ, а в центре колонии 1,2—1,5 μ × 1,5—2,25 μ.

Характер роста и колонии. Желтые, гладкие, блестящие колонии, слегка слизистой консистенции. При рассевах иногда дают некоторое количество желтых, сухих колоний со складчатой поверхностью. Это связано с изменчивостью вида. Семнадцатидневные гигантские колонии желтые с коричневатым оттенком, круглые с бесцветным фестончатым краем, и в их рельефе виден ряд концентрических зон. При микроскопии гигантских колоний обнаруживаются группировки и скопления клеток — попытка к началу формирования цист.

На мясопептонном и дрожжевом агаре рост умеренный, серовато-желтый, гладкий, блестящий. На навозном агаре очень слабый и едва видимый налет.

На сусло-агаре желтый, сползающий вниз, слизистый налет. На кусочке картофеля обильный ярко желтый, влажный рост. На кусочке моркови очень слабое развитие. На мясопептонном бульоне легкая муть и тонкая, быстро опадающая на дно пленка. На сусле муть и нежная пленка. На мясопептонной и картофельной желатине рост и медленное воронкообразное разжижение желатины.

Образует аммиак, слабое выделение сероводорода. Индола не образует.

В качестве источников углеродистого питания утилизирует: глюкозу, фруктозу, галактозу, ксилозу, мальтозу, декстрин, гликоген, уксуснокислый натрий, растворимый крахмал. Очень слабый рост на арабинозе, лактозе, инулине. Нет роста на рафинозе, сахарозе, клетчатке, глицерине, манните и дульците.

Азотистое питание. Хороший рост на белковых средах (дрожжевой отвар, мясопептонный бульон), пептоне, аланине и азотнокислом натрии. Удовлетворительное развитие — на аспарагине, тирозине, мочевине и сернокислом аммонии. Слабый рост на *d*-лейцине и азотистокислом натрии, и не было роста на гликокколе и *l*-цистине.

Строгий аэроб.

Медленное развитие при 5—11,5°, хороший рост при 25—31,5° и при 38—39° размножения нет. Не все клетки убиваются при нагревании до 45° в течение 10 мин. и полностью погибают за то же время при 50°.

Хороший рост при pH от 4,1 до 7,5.

Культура вызывает лизис Botrytis sp. и Fusarium lini. Местонахождение: почва.

Promyxobacterium lanceolatus nov. sp.

Морфология. Молодые клетки имеют форму толстой палочки со слегка заостренными концами 0,8 — 1,75 μ × 2,6 — 5,5 μ, иногда нити до 26,3 μ. Клетки особенно часто расположены попарно. При старении культуры клетки утолщаются и укорачиваются до 0,5—1,75 μ × 1,4 — 1,75 μ. Молодые клетки подвижны, но жгутиков нет.

Характер роста и колонии. Крупные, блестящие, серовато-белые, складчатые колонии, с трудом снимаются с агара. Гигантские колонии через 10 дней достигают 11 мм в диаметре, они серовато-кремового цвета. Край колонии имеет вид слизистого, блестящего валика, центр колонии состоит из крупных складок. В колониях наблюдаются группировки клеток, образующих небольшие «поля» 4,5—9 μ в диаметре, последние в свою очередь группируются, но ни цист, ни плодовых тел не формируется.

На дрожжевом и мясопептонном агаре рост обильный и колонии сохраняют свою складчатую форму. На картофельном агаре рост становится более гладким и слизистым. На картофельном и почвенном отваре и дрожжевой воде — хорошее развитие. Рост на картофельной желатине и ее разжижение.

Углеродистое питание. Хорошее размножение на глюкозе, фруктозе, галактозе, арабинозе, ксилозе, мальтозе, лактозе, сахарозе, декстрине, растворимом крахмале и гликогене. Слабый рост на рафинозе, инулине и уксуснокислом натрии и отсутствие роста на клетчатке, глицерине, манните и дульците.

Азотистое питание. Хорошее развитие на белковых средах, пептоне, аспарагине, аланине, тирозине, мочевине, сернокислом натрии и азотнокислом натрии. Слабый рост на *d*-лейцине и азотистокислом натрии и не растет на средах с гликокколем.

Строгий аэроб. Медленное развитие при 5—11,5°, оптимум роста 25—30° и отсутствие роста при 38—39°.

Лучше развивается в кислых средах (pH 4,1), чем в слабощелочных (pH 7,5).

Местонахождение: почва.

Описанными видами не ограничиваются культуры, выделенные из почвы и изучавшиеся нами. Среди них были виды, образующие розовый, светлокоричневый, ржавокоричневый, оранжевый или зеленый цвета. Клетки в некоторых культурах имели хроматиновые зерна, что указывало на их бесспорную принадлежность к миксобактериям. Клетки у изолированных видов были различной величины, а иногда и формы, все они были подвижны, но не имели жгутиков. В некоторых ги-

гантских колониях вообще не удавалось обнаружить попытки к формированию цист или плодовых тел — клетки располагались совершенно диффузно. В этом случае выяснить систематическое положение культуры было наиболее сложным.

Об изменениях в систематике миксобактерий

Применение микробиологических методов исследования позволило обнаружить среди миксобактерий ряд видов, не образующих плодовых тел. Это не были уже известные Cytophaga, обладающие характерными удлиненными клетками с заостренными концами, а организмы, имеющие палочковидную форму клеток. Представителей Cytophaga сравнительно легко отличить от обычных бактерий, тогда как вновь описанные нами виды легко могут быть приняты за Eubacteriales. Таким образом формирование плодовых тел уже нельзя считать за признак, характерный для всех миксобактерий, так как в природе, как в почве, так и в водоемах, широко распространены несовершенные формы миксобактерий, не образующие плодовых тел. Возможно, что несовершенные формы представляют весьма разнородную группу, отдельные представители которой генетически связаны с различными семействами и родами высших миксобактерий. Все же обособление их необходимо, так как строить систематику на проблематических связях менее надежно, чем на таких верных признаках, как образование микроцист, цист или плодовых тел.

Способность давать плодовые тела и микроцисты имеет прогрессивный характер, и их приспособительное значение несомненно. Они гораздо устойчивее к разнообразным внешним факторам, чем вегетативные клетки. Отметим также, что в обогащенных культурах миксобактерий нередко живут Protozoa, которые питаются вегетативными клетками миксобактерий, но плодовые тела их уже совершенно недоступны для простейших. Все это позволяет считать несовершенные виды миксобактерий за первичные, а не вторичные формы, возникшие путем деградации миксобактерий, имеющих сложную историю развития. Поэтому все несовершенные формы, не дающие плодовых тел, мы объединяем в новое семейство Promyxobacteriaceae.

К систематике миксобактерий возможно два подхода. По предложению Jahn [9], систематика основана на морфологии плодовых тел и цист, а также на истории развития миксобактерий, В недавнее время Stainier [19] предложил исходить в первую очередь из формы клеток, считая, что для представителей семейства Sorangiaceae характерны короткие толстые палочки с закругленными концами, тогда как миксобактерии, относящиеся к другим семействам, имеют длинные тонкие, иногда веретенообразные с заостренными концами клетки.

Исходить из морфологии плодовых тел при классификации высших миксобактерий нам кажется более правильным, так как некоторые миксобактерии, например одни виды Archangium, имеют удлиненные, а другие — более короткие вегетативные клетки. Если руководствоваться формой клеток, то возникают затруднения при выделении семейства Promyxobacteriaceae, объединяющего несовершенные формы, вегетативные клетки которых могут иметь различный внешний вид.

Внеся изменения в систематику, предложенную Jahn, мы получили следующий ключ для определения семейств, а также родов семейства Promyxobacteriaceae.

1. Плодовые тела и цисты не образуются
Семейство 1 Promyxobacteriaceae

1. Вегетативные клетки палочковидной формы с закругленными концами

Род 1 Promyxobacterium

2. Вегетативные клетки длинные, тонкие, слегка изогнутые, с заостренными концами

A. Микроцист нет

Род 2 Cytophaga

B. Микроцисты круглые или овальные

Род 3 Sporocytophaga

II. Плодовые тела образуются

1. В плодовых телах палочки более или менее укорачиваются, но никогда не становятся закругленными, как кокки

A. Колонии или псевдоплазмодии не образуют закругленных цист, но скручиваются, образуя брыжейкоподобные массы или дают столбообразные или пальцевидные тела

Семейство 2 Archangiaceae

B. Колонии или псевдоплазмодии образуют оформленные цисты

a. цисты угловатые

Семейство 3 Sorangiaceae

b. цисты закругленные

Семейство 4 Polyangiaceae

2. В плодовых телах палочки укорачиваются, образуя круглые микроцисты

Семейство 5 Myxococcaceae

Относя Sporocytophaga и Cytophaga к семейству Promyxobacteriaceae, мы тем самым подчеркиваем их родство, в то время как по схеме, предложенной Stainier, они попадали в разные семейства. Семейство Promyxobacteriaceae включает наиболее примитивные миксобактерии и начинает систематику этой группы организмов. Следующее по порядку семейство Archangiaceae как бы связывает низшие и высшие со сложной историей развития миксобактерий.

Гипотеза о связи между Eubacteriales и несовершенными формами миксобактерий касается, конечно, рода Promyxobacterium, так как морфология клеток Cytophaga настолько своеобразна, что среди Eubacteriales трудно найти аналогичные формы. Что же касается Promyxobacterium, то среди представителей этого рода существуют виды, которые легко принять за обычные бактерии. Они особенно напоминают пигментные неспороносные палочки из рода Flavobacterium или Chromobacterium. Неподвижность таких пигментных бактерий в жидкой среде еще не решает вопроса, так как подвижность некоторых миксобактерий обнаруживается только на плотных средах (клетки ползут). Вопрос о том, существуют ли переходные формы, обладающие жгутиками, но в остальном сходные с миксобактериями, остается открытым. Описание таких форм окончательно стерло бы грань между несовершенными миксобактериями и некоторыми истинными бактериями. Описывая аэробные целлюлозные бактерии, Виноградский указывает, что клетки Cellfaicicula имели жгутик. По своей морфологии Cellfalcicula очень напоминают миксобактерий и если клетки этого организма действительно обладают жгутиком, то возможно, что именно эти виды относятся к таким переходным формам.

Выводы

1. Между различными высшими бактериями (Myxobacteriales, Actinomycetales, Trichobacteriales и др.) и истинными бактериями (Eubacteriales) имеются переходные формы. Выяснение генетических связей, существующих между наиболее примитивными представителями высших бактерий и Eubacteriales, должно предшествовать разработке естественной системы микроорганизмов.

2. Среди Myxobacteriale существуют несовершенные формы, не образующие плодовых тел и не имеющие сложной истории развития, характерной для миксобактерий. Эти формы могут быть приняты за Eubacteriales.

3. Несовершенные формы миксобактерий объединены в новое семейство Promyxobacteriaceae, состоящее из рода Promyxobacterium, Cytophaga, Sporocytophaga.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР,
Москва

Получено 20.III. 1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. и Солнцева Л. Об аэробных целлюлозиых бактериях. Изв. Акад. Наук, №6, 1115, 1936.
2. Имшенецкий А. и Солнцева Л. О миксобактериях, разлагающих клетчатку. Микробиология, т. VI, 3, 1937.
3. Имшенецкий А. Строение бактерий. Москва — Ленинград. 1940.
4. Исаченко Б. и Вакенгут А. Несколько наблюдений над циклом развития организма, разлагающего клетчатку. Архив биол. наук, 32, 476, 1932.
5. Красильников Н. Лучистые грибки и родственные им организмы (Actinomycetales). Москва — Ленинград, 1938.
6. Мишустин Е. Chondrococcus coralloides и факторы, определяющие цикл его развития. Микробиология, т. XI, вып. 4, 1942.
7. Солнцева Л. Методы культивирования миксобактерий. Микробиология, т. VIII, 959, 1939.
8. Hutchinson H. and Clayton J. On the decomposition of cellulose by an aerobic organism. J. Agr. Sci., 9, 143, 1919.
9. Jahn S. Beiträge zur botanischen Protistologie. I. Die Polyangiden. Leipzig, 1924.
10. Jensen H. A note on the Systematic Position of Mycobacterium coeliacum. Proc. Linn. Soc. N. S. W., 59, 201, 1931.
11. Jensen H. Contribution to our Knowledge of the Actinomycetales. Proc. Linn. Soc. N. S. W., 56, 56, 1931; 57, 173, 1932; 57, 364, 1932.
12. Jensen H. Corynebacteria as an important Croup of Soil Microorganisms. Proc. Linn. Soc. N. S. W., 58, 181, 1933.
13. Jensen H. Nitrogen Fixation and Cellulose Decomposition by Soil Microorganisms. I. Proc. Linn. Soc. N. S. W., 543, 1940.
14. Krzemieniewska H. Le cycle évolutif de Spirochaeta cytophaga Hutchinson et Clayton. Acta Soc. Bot. Polon., 7, 507, 1930.
15. Krzemieniewska H. Contribution à l'étude du genre Cytophaga (Winogradsky). Arch. Mikrob., 4, 394, 1933.
16. Lehmann K. u. Neumann R. Bakteriologische Diagnostik. 7 Aufl. München, 1927.
17. Lieske R. Morphologie und Biologie der Stahlenpilze. Leipzig, 1921.
18. Stainier R. Studies on the Cytophagas. J. Bact., 40, 619, 1940.
19. Stainier R. The Cytophaga Group: Contribution to the Biology of Myxobacteria. Bacter. Rev., 6, 143, 1942.
20. Stapp C. u. Bartels H. Mikrobiologische Untersuchungen über die Zersetzung von Waldstreu. Ctbl. Bakt., II. Abt., 90, 28, 1934.
21. Winogradsky S. Etudes sur la microbiologie du sol. 4-ème mémoire sur la dégradation de la cellulose dans le sol. Ann. Inst. Past., 43, 549, 1929.

ON THE IMPERFECT FORMS OF MYXOBACTERIA

A. A. Imšenecki and *L. I. Solntzeva*

Summary

1. Between the various higher bacteria (Myxobacteriales, Actinomycetales, Trichobacteriales, etc.) and the true bacteria (Eubacteriales) there exist transitional forms. The elaboration of a natural system of microorganisms should be preceded by the elucidation of the genetic relationships existing between the most primitive representatives of the higher bacteria and the Eubacteriales.

2. Imperfect forms, which do not produce fruiting-bodies and do not pass through the complicated life cycle characteristic of Myxobacteria, exist among the Myxobacteriales. These forms may be mistaken for Eubacteriales.

3. The imperfect forms of Myxobacteria have been united into a new family Promyxobacteriaceae, consisting in the genera Promyxobacterium, Cytophaga and Sporocytophaga.

Institute of Microbiology
of the Academy of Sciences of the USSR
Moscow

ПРИВИВКА НОВЫХ СВОЙСТВ ВИРУЛЕНТНОСТИ КЛУБЕНЬКОВЫМ И НЕКОТОРЫМ НЕКЛУБЕНЬКОВЫМ БАКТЕРИЯМ

Н. А. Красильников

В предварительном сообщении мы отмечали [2], что клубеньковые бактерии меняют свои специфические свойства вирулентности при воздействии продуктов жизнедеятельности других видов бактерий. Культуре прививаются свойства тех бактерий, продуктами обмена которых она обрабатывается. Например, клубеньковым бактериям люцерны, гороха, вики и фасоли мы прививали свойства образовать клубеньки на корнях клевера.

В настоящем сообщении мы приводим результаты дальнейших наблюдений. Нас интересовали следующие вопросы: во-первых, как широко распространяется указанное влияние на клубеньковые бактерии? Во-вторых, можно ли привить свойство образовать клубеньки на корнях бобовых неклубеньковым бактериям? В-третьих, как длительно сохраняются привитые свойства и, наконец, меняются ли другие свойства у бактерий, которым привита вирулентность или изменена ее специфичность?

Методы наших исследований таковы.

Намеченные для испытания бактерии выдерживались 2—7 мес. в фильтрате клубеньковых бактерий, свойства которых требовалось привить. После того бактерии проверялись на способность образовать клубеньки у соответствующих бобовых растений.

Фильтраты клубеньковых бактерий мы получали фильтрованием старых культур, выросших на бобовом отваре, через свечи Беркфельда. Испытание на вирулентность проводилось в стерильных условиях в колбах Эрленмейера на агаризованной среде, по указанному в предыдущей работе способу. В положительных случаях на корнях растений образовывались клубеньки, которые анализировались микробиологически и цитологически. Для контроля мы брали культуры бактерий, выросшие на бобовом отваре, а также чистые фильтраты без заражения. Первый контроль нужен для того, чтобы проверить вирулентность к данному растению исходных культур, а второй — для того, чтобы исключить возможность образования клубеньков за счет возможных фильтрующихся форм в фильтрате.

Описанным способом мы испытали следующие культуры клубеньковых бактерий: два штамма бактерий клевера (белого и красного) и по одному штамму донника, люцерны, гороха, вики, фасоли, конских бобов, акации и сои. Все эти бактерии выдерживались в фильтратах клубеньковых бактерий клевера и люцерны в течение 2,5—4 и 6 мес. Проведены были три повторные серии опытов. Результаты этих опытов сведены в табл. 1 и 2.

Из приведенных таблиц видно, что клубеньковые бактерии донника, люцерны, вики, гороха и акации после длительного пребывания (4—6 мес.) в фильтрате клубеньковых бактерий клевера приобрели свойства образовать клубеньки на корнях клевера, а после пребывания в фильтрате бактерий люцерны приобрели свойства последних. Кон-

Таблица 1

Образование клубеньков на корнях клевера при инокуляции его клубеньковыми бактериями других видов, выдержанных в фильтрате

Варианты опытов	Клубеньковые бактерии									
	люцерны	клевера белого	клевера красного	донника	вики	гороха	фасоли	конских бобов	акации	сои
1. Контроль (исходные культуры бактерий)	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
2. Контроль (фильтрат)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Бактерии после пребывания в фильтрате	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—

Таблица 2

Образование клубеньков на корнях люцерны при инокуляции ее клубеньковыми бактериями других видов, выдержанных в фильтрате

Варианты опытов	Клубеньковые бактерии									
	люцерны	донника	клевера красного	клевера белого	вики	гороха	фасоли	конских бобов	акации	сои
1. Контроль (исходные культуры бактерий)	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Контроль (фильтраты)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Бактерии после пребывания в фильтрате	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—

трольные культуры, находившиеся такое же время в бобовом отваре, не способны образовать клубеньки на корнях ни клевера, ни люцерны. Отрицательные результаты получены также с фильтратами. Клубеньковые бактерии фасоли и сои не изменили своих специфических свойств вирулентности. Конские бобы изменили вирулентность после пребывания в фильтрате бактерий люцерны и не изменили от фильтрата бактерий клевера.

Для изменения вирулентных свойств у клубеньковых бактерий требуются определенные сроки воздействия фильтратов. Лучшие показатели изменений были получены в культурах, находившихся в фильтрате в течение 4 мес. Культуры после такого срока обработки фильтратом бактерий клевера образовали клубеньки на корнях клевера довольно быстро, на 15—20-е сутки и в большом количестве, по 3—5 клубеньков на одном растении. Шестимесячная обработка фильтратом снижает действие последнего. Культура образует клубеньки более медленно, на 20—40-е сутки и не больше 1—2 клубеньков на одном растении.

В одном опыте мы хранили культуру в запаянных пробирках в фильтратах клубеньковых бактерий клевера и люцерны в течение двух лет, после испытывали их на выживаемость и вирулентность на соответствующих двух растениях. Культуры оказались в большинстве погибшими, а оставшиеся в живых не образовали клубеньков ни на клевере, ни на люцерне. Не образовали клубеньков также и бактерии

клевера и люцерны после двухлетнего пребывания в собственных фильтратах, а равно и в бобовом отваре. Попытка восстановить вирулентность у последних путем пересевов на различные питательные среды не привела к положительным результатам. Повидимому, длительное хранение культур в жидкой среде без пересевов приводит к сильному перерождению бактерий, в данном случае к полной утере способности образовать клубеньки на корнях бобовых растений.

Следует отметить, что вирулентность у клубеньковых бактерий вообще не стойкий признак; она сравнительно быстро утрачивается бактериями при воздействии различных агентов. Мы получали авирулентные расы у клубеньковых бактерий клевера при воздействии бактериофага [3]. У клубеньковых бактерий вики авирулентные расы получали при воздействии супраоптимальной температуры (37—38°). Аналогичные расы у разных видов клубеньковых бактерий мы получали под влиянием лучистой энергии (радон, лучи Рентгена, ультрафиолетовые лучи), химических факторов (H_2S, спирт) и биологических.

Авирулентные расы клубеньковых бактерий, полученные экспериментально, весьма стойки. Как правило, возврат к исходным формам, т. е. восстановление способности образовать клубеньки обычно не наблюдается у этих рас. Только специальными воздействиями, как, например, обработкой фильтратом у некоторых рас, нам удавалось восстановить вирулентность [3]. Причем этот процесс скорее надо рассматривать как вновь привитые свойства, а не восстановленные.

Не все виды клубеньковых бактерий одинаково легко меняют свою вирулентность. Например, культурам бактерий фасоли и сои нам не удалось привить свойство образовать клубеньки, ни у клевера, ни у люцерны, а клубеньковым бактериям конских бобов не удалось привить вирулентность к клеверу.

С утерей способности образовать клубеньки на корнях бобовых растений клубеньковые бактерии становятся обычными почвенными сапрофитами. Последнее обстоятельство побудило нас провести опыты с прививкой неклубеньковым бактериям свойства образовать клубеньки у бобовых растений.

Мы использовали тот же метод, применявшийся в предыдущих опытах. Для этого были отобраны разные представители бактерий спороносных и неспороносных. Все они выдерживались 2—4 мес. в фильтрате клубеньковых бактерий клевера и люцерны, а затем проверялись на способность образовать клубеньки у соответствующих двух растений (клевера и люцерны).

Всего было испытано 28 штаммов бактерий, из них спороносных 5 штаммов (B. mycoides, B. mesentericus, B. megatherium — 2 штамма, Bacillus sp.) и неспороносных, из которых 12 принадлежали к Pseudomonas (Ps. fluorescens, Ps. liquefaciens и др.) и 5 — к Achromobacter; затем B. radiobacter, B. herbicola и пр. Двум штаммам (№ 3 и 8) из всего числа бактерий удалось привить способность образовать типичные клубеньки на корнях клевера, а один штамм (№ 13) образовал не типичные клубеньки у люцерны. Процесс прививки протекал постепенно, через серию последовательных пассажей. В первом заражении на корнях растений образовались небольшие боковые или муфтообразные вздутия (рис. 1). В клетках этого вздутия можно было заметить бактерии в виде небольших скоплений. Из такого вздутия был произведен отсев, и найденные бактерии снова выдерживались в фильтрате клубеньковых бактерий того же вида. Через 1—2 мес. производилось ими заражение растений. Получали снова единичные, мало типичные клубеньки. Лишь только через 3—4 таких последовательных пассажа нам удалось получить типичные клубеньки на корнях клевера (рис. 2). У люцерны не удалось получить типичные клубеньки. Получались

только первичные муфтообразные вздутия большей или меньшей величины.

Три бактерии, образовавшие клубеньки на клевере и люцерне, по своему внешнему виду и по культуральным признакам относятся к Pseudomonas. Это мелкие подвижные грамотрицательные палочки, на концах они имеют по одному, редко — по 2 жгутика; плазма клеток светлая, гомогенная с 1—2 мелкими зернышками. Развиваются они хорошо на белковых средах (МПА, МПБ, желатина) и на синтетических, небелковых (среда Чапека). Штаммы усваивают хорошо NO_3, HN_3 как источники азота; сахарозу, глюкозу, маннит, уксусную, лимонную кислоты и другие соединения как источник углеродистого питания; желатину разжижают два штамма (№ 3 и № 13), третий (№ 8) не разжижает; молоко слабо пептонизируют, не створаживая его. Крахмал не гидролизируют, нитраты штамм № 3 редуцирует, а штаммы № 8 и 13 их не редуцируют.

На среде Чапека клетки имеют слизистую капсулу. Колонии бактерий слизистые, мутные, несколько напоминают радиобактер. По систематическому положению штаммы № 3 и 13 ближе относятся к Ps. boreopolis, описанному Грей и Тортоном в 1928, а штамм № 8—к Ps. denitrificans Christens (1903 г.), определенному по Bergey [5].

Рис. 1

С приобретением свойств вирулентности к бобовым растениям другие особенности у сапрофитов чаще всего не изменяются. У описанных выше бактерий, которым была привита способность образовать клубеньки на корнях клевера и люцерны, мы не могли установить какие-либо другие изменения, ни морфологические, ни физиологические, ни ферментативные. Лишь только колонии на синтетических средах стали более слизистыми и прозрачными.

Вновь привитые свойства вирулентности как у клубеньковых бактерий, так и у неклубеньковых сохранялись в условиях лабораторного культивирования на обычных питательных средах недолго. Мы хранили эти бактерии на синтетической среде и на МПА. Из 5 культур клубеньковых бактерий потеряли вновь приобретенную вирулентность через 3 мес. при 5-кратном пересеве три штамма, а через 5 месяцев — все штаммы вернулись к исходным. Только путем пассирования через растения в самых клубеньках они сохраняют эти свойства. Надо полагать, что в последнем случае они не только сохраняются, но и закрепляют вновь приобретенные свойства.

Неклубеньковые бактерии, приобретшие способность образовать клубеньки на корнях бобовых, сохраняют эти свойства примерно в такие же сроки. Мы их поддерживали на растениях в клубеньках более года. Изучение этих культур продолжается.

На основании приведенных, пока не полных данных, можно заключить, что вирулентность к бобовым растениям, т. е. способность образовать клубеньки у них не является строго постоянным свойством клубеньковых бактерий, она легко утрачивается, если эти бактерии культивировать на искусственном субстрате, в лабораторных условиях. Это

подтверждается не только нашими наблюдениями. В литературе имеются многочисленные указания на потерю вирулентности и активности у клубеньковых бактерий.

Утерянные свойства вирулентности чаще всего не восстанавливаются. Мы не могли восстановить вирулентность у авирулентных рас, полученных экспериментальным путем.

Следовательно, с потерей этих свойств клубеньковые бактерии перестают быть таковыми. Они превращаются в обычные почвенные неспороносные бактерии, примыкающие ближе всего к Pseudomonas.

Благодаря нестойкости признака вирулентности у клубеньковых бактерий последние могут легко менять видовую специфику, т. е. превращаться из одного вида в другой, или они становятся менее специализированными, образуя клубеньки у разных видов бобовых растений. Такие бактерии с широким охватом растений, как известно, встречаются в почве нередко; во многих случаях такие бактерии трудно диагносцировать и они остаются до сих пор без определенного систематического положения, так как классификация их основана на признаках специализации к растению — хозяину. Надо полагать, что в природных условиях переход одного вида в другой или, вернее, изменение специфической вирулентности у клубеньковых бактерий происходит нередко. Федоров [4] менял специализацию у клубеньковых бактерий фасоли, прививая им свойства клубеньковых бактерий сои с помощью сближения растений. Он выращивал в одном сосуде, на стерильном песке фасоль и сою, инокулированные клубеньковыми бактериями фасоли. Когда проростки этих растений достигали 7—10 см длины, они сращивались стеблями друг с другом. На корнях сои, сросшейся с фасолью, образовались типичные клубеньки такой же величины и формы, как и при заражении типичными бактериями сои. Полученная культура бактерий из клубеньков сои — ментора в дальнейшей инокуляции образовала клубеньки у свободно живущих растений сои. Опыты Федорова показывают, что фактором превращения клубеньковых бактерий могут быть растения.

Рис. 2

Под влиянием корневой системы многие бактерии почвы меняют свои свойства вообще, а некоторые из них, надо полагать в процессе приспособления, приобретают способность внедряться в корневую ткань и образовать клубеньки. Бачинская и Кондратьева [1] показали, что в ризосфере пшеницы обнаруживается особо приспособленная форма азотобактера, резко отличающаяся от штаммов, обитающих вне зоны корней. Кореняко в нашей лаборатории наблюдала изменение свойств у клубеньковых бактерий под влиянием корневых выделений разных растений. О приспособлении почвенных бактерий к корневой системе

сои показывают наблюдения Сидоренко (неопубликованные данные). Этот автор отмечает, что соя, не имеющая клубеньков в почве Красноградской опытной станции (Харьков), приобретает их, если это растение высевать подряд 3—4 года на одном и том же участке. В этих почвах имеются какие-то бактерии, которые под влиянием корневой системы сои приобрели способность образовать у нее клубеньки. Такими бактериями могут быть другие виды клубеньковых бактерий или неклубеньковые, скорее всего из группы Pseudomonas.

Наши данные показывают, что в условиях лабораторного эксперимента некоторые бактерии из Pseudomonas превращаются в клубеньковые, если только в основу определения последних взять признак образования клубеньков на корнях бобовых.

Касаясь вирулентности как систематического признака, следует признать, что он весьма не стойкий и не может характеризовать данные бактерии как самостоятельный вполне обособленный род. Скорее, это начинающийся род бактерий, филогенетически связанный с Pseudomonas, причем этот род не однороден по происхождению. Корни его различны. Такие бактерии, как Rh. trifolii, с одной стороны, Rh. meliloti или Rh. japonicum, с другой стороны, безусловно произошли от разных видов неспороносных бактерий. Их морфологические и культуральные различия значительно резче выражены и более стойко сохраняются, чем вирулентность. Клубеньковые бактерии люцерны, как известно, хорошо развиваются на МПА, а бактерии клевера, гороха, вики и другие не развиваются на этой среде. Попытки наши выращивать эти бактерии на МПА не привели к положительным результатам. Лишь только при воздействии лучистой энергии радия, а также при воздействии бактериофага нам удалось получить от Rh. trifolii штаммы, которые слабо развивались на белковой среде. Точно так же нам не удалось получить быстро и обильно растущие штаммы клубеньковых бактерий сои. Данные признаки более надежны для характеристики клубеньковых бактерий, чем специфичность их вирулентности.

Выводы

1. Опытами установлено, что вирулентность у клубеньковых бактерий представляет нестойкий признак. Она быстро теряется или специфичность ее меняется.

2. При воздействии продуктов жизнедеятельности одних видов клубеньковых бактерий на другие можно изменить специфичность у последних и привить им свойства первых. Иными словами, одни виды бактерий превращаются в другие. Клубеньковые бактерии клевера, люцерны, вики, гороха и др. приобрели свойства образовать клубеньки на корнях люцерны и клевера после 2—4 мес. пребывания в фильтратах бактерий люцерны и клевера.

3. Методом прививок удалось превратить в клубеньковые бактерии некоторые неклубеньковые. Мы получили культуры, образующие клубеньки у клевера из почвенных бактерий группы Pseudomonas.

4. Не все почвенные бактерии могут превращаться в клубеньковые бактерии. Из 28 культур только двум удалось привить свойство образовать клубеньки у клевера и одному у люцерны.

5. Вновь привитые свойства как у клубеньковых, так и у неклубеньковых бактерий сохраняются недолго в условиях лабораторного культивирования. В клубеньках бобовых растений эти свойства сохраняются длительно.

6. Вирулентность как систематический признак не всегда может считаться решающим при определении вида у клубеньковых бактерий.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 18.XII.1944

ЛИТЕРАТУРА

1. Бачинская А. и Кондратьев Т. Расы Azotobacter chroococcum Beij. Az. incapsulate n. sp., выделенные из почв Заволжья. Сов. бот., № 5—6, стр. 94, 1941.
2. Красильников Н. Изменчивость клубеньковых бактерий. ДАН СССР, т. 31, № 1, 1941.
3. Красильников Н. Изменчивость клубеньковых бактерий, 1. Образование рас под влиянием бактериофага. Микробиология, т. X, вып. 4, стр. 397, 1941.
4. Федоров С. Прививка и природа клубеньковых бактерий. Яровизация., т. I, (28), стр. 8, 1940.
5. Bergey D. Determinative Bakteriology. 5 ed., London, 1939.

ENGRAFTING OF NEW VIRULENCE CHARACTERS TO NODULE AND SOME OTHER BACTERIA

N. A. Krassilnikov

Summary

1. It has been experimentally established that virulence in nodule bacteria is an unstable characteristic. It is easily lost and its specifity can be changed.

2. By acting on one species of nodule bacteria with the metabolic products of another it is possible to change the specifity of the first and engraft to them the character of the latter. In other words, one bacterial species is thus transformed into another. The nodule bacteria of clover, lucerne, vetch, peas, *etc.* have acquired the properties of forming nodules on the roots of lucerne and of clover after a 2—4 month's sojourn in filtrates of the cultures of lucerne and clover nodule bacteria.

3. It proved possible to transform some non-nodule bacteria into nodule ones by this method of engrafting. We obtained cultures, which form nodules on clover from soil bacteria belonging to the group Pseudomonas.

4. Not every species of soil bacteria can be transformed into nodule bacteria. We were able to engraft the ability of forming nodules on clover to 2 and on lucerne to 1 of the 28 strains used for these experiments.

5. The newly engrafted characters are kept by the nodule and former non-nodule bacteria but for a short time under conditions of laboratory cultivation. In the nodules on leguminous plants these characters may be maintained for a long time.

6. Virulence, as a systemic character, cannot be always regarded as decisive for the determination of species in nodule bacteria.

Institute of Microbiology
of the Academy of Sciences of the USSR
Moscow

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ПОЧВЫ И ПРИЧИНЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ

Е. Н. Мишустин и *О. И. Васильева*

Введение

Термофильные микроорганизмы довольно распространены в почвах разных климатических зон. Один из первых исследователей, работавших с термофильной микрофлорой почвы, Globig (1888), предполагал, что их размножение в природной обстановке обеспечивается инсоляцией, достаточно хорошо нагревающей дневную поверхность почвы.

Эта точка зрения как будто бы подтверждалась тем, что термофилы обнаруживались Глобигом в поверхностных слоях весьма разнообразных почв, но их не удалось найти более глубоко в почве. De Kruyff [9] допускал, что термофилы должны чаще встречаться в почвах тропических стран. Он отмечает, что в тропиках уже рано утром температура почвы на солнце поднимается до 32—40°, а в полдень доходит до 45—60°. Температура воды затопленных рисовников достигает почти 50°.

Завертывая пробирки с агаровой средой, зараженной культурами термофилов в черную бумагу и выставляя их на солнце, он мог убедиться, что инсоляция вполне обеспечивает развитие термофильных бактерий.

Тропики — это родина термофилов. Вот основное положение, к которому приходит де-Крюи на основании своих работ. Общие соображения заставляют этого исследователя думать о наличии большого числа термофилов в поверхностных слоях тропических почв. К сожалению, однако, какого-либо точного цифрового материала, характеризующего обсемененность тропических почв термофильными бактериями, де-Крюи не приводит.

Ряд других исследователей (Krohn [8], Negre [12] и др.) в полном согласии с Глобигом и де-Крюи считали вполне доказанным факт активного размножения термофильных микроорганизмов в почвах южных местностей.

В свое время мнение о термофилах как типичных представителях микронаселения теплых стран было как бы подтверждено Циклинской, изучавшей почвы антарктических местностей. Данные почвы были собраны экспедицией Шарко (Charcot). Их анализ показал отсутствие термофильной микрофлоры.

Относительно недавно Егорова [3], изучавшая значительный набор почв крайнего Севера, не подтвердила выводов Циклинской.

Ей удалось констатировать присутствие типичных термофилов в почвах островов Диксон, Уединения, Визе и Новой Земли, а также грунтах Карского моря. К сожалению, каких-либо количественных данных в своем исследовании Егорова не приводит. Она высказывает предположение о том, что термофильные бактерии заносятся на север и там находятся в латентном состоянии.

Вообще постепенно накопилось достаточно сведений, говорящих о широком распространении термофилов в почвах северной зоны (Mac Fadyen и Blaxall [10], Рабинович [16], Opresсu [15], Schilinger [18],

Sames [17], Blau [5], Migula [11], Krohn [8], Feirer [6] и др.). У весьма многих исследователей, если не у большинства, начинает складываться впечатление, что при известной обстановке термофилы могут размножаться в почвах умеренного климата.

Так, например, Мигула полагал, что инсоляция обеспечивает в летний период времени развитие термофилов в почве. Он установил отсутствие в лесных почвах бактерий, развивающихся при повышенной температуре, что и объяснил плохой прогреваемостью подобных почв солнечным светом.

С указанным представлением вполне как будто бы согласуются факты, сообщенные Глобигом, который находил термофилов лишь в поверхностных слоях почвы.

Однако материалы, опубликованные Самес, весьма убедительно показали, что вряд ли инсоляция может быть рассматриваема в качестве основного фактора, определяющего размножение термофилов в почвах северной зоны. Начинают изыскиваться другие объяснения. Так, Koch и Hoffmann [7] на основании проведенной ими экспериментальной работы высказывают мнение, что в почвах термофилы могут размножаться при более низкой температуре, чем на искусственных питательных средах. Они проводили опыты с термофильными формами, не развившимися на агаровых средах при 25—28°.

В том случае, если этими микробами инфицировалась стерильная почва, то через некоторое время при 28—30° можно было отметить некоторое нарастание числа зародышей. В колбах, выдерживаемых при 52°, шло энергичное размножение термофилов.

Кох и Гофман не дают в своей работе цифрового материала, и их высказывания, изложенные в общей форме, не очень убеждают читателя в доказательности их экспериментов. Проверочная работа, выполненная Noak [14], также не подтвердила выводов Коха и Гофмана.

Некоторые исследователи, как, например, Рабинович, высказали предположение, что в анаэробных условиях термофилы могут размножаться при более низкой температуре, чем при доступе воздуха. Это допущение не имеет, однако, каких-либо серьезных экспериментальных обоснований.

Опыт нашей работы позволил сделать вполне определенное заключение о наличии термофилов в различных почвах и причинах, вызывающих их распространение. Соответствующий сводный материал приводится в нижеследующих разделах.

Термофильные микроорганизмы в почвах различных климатических зон

За период 1926—1944 гг. нами было проанализировано весьма большое число почв на нахождение в них термофильных микробов. Полученные материалы сведены в табл. 1.

Не трудно установить, что целинные почвы как севера, так и юга крайне бедны термофилами. Поражает, примерно, одинаковая бедность термофильными микроорганизмами чрезвычайно отдаленных друг от друга целинных почв. Так, например, в почвах горных вершин Алагеза имеется почти столько же зародышей термофилов, как и в почвах крайне-северных местностей.

Это заставляет нас думать об эоловом происхождении термофильной микрофлоры почвы, в силу чего поверхность земного шара довольно равномерно покрыта зародышами интересующих нас микробов. Данное предположение не исключает, конечно, возможности некоторого загрязнения почвы птицами, на что указывалось рядом исследователей.

Мы полагаем, что в почвах термофилы обычно находятся в латент-

Таблица 1

Распространение термофильных микроорганизмов в почвах СССР

№ п/п.	Зона	Почвы изученных пунктов	Количество термофилов в тыс. на 1 г почвы			
			целина	слабо окультуренные почвы	среднеокультуренные почвы	огороды
1	Почвы тундры и тайги	Ок. Хибин . .	0,0—0,2	2,4—3,6	—	Ок. 30,0 *
		» Архангельска	Ок. 0,1	—	—	360—450
		» Игарки . .	0,4—0,7	0,4—2,4	—	40—60**
2	Подзолистая почва	Ок. Дмитрова .	0,1—0,4	—	—	Ок. 30
		» Москвы . .	0,1—0,3	2,4—4,0	4,0—15,0	20—40
		» Подольска .	0,4—1,0	Ок. 4,0	18,0—28,0	170—280
		» Балашихи .	0,03—0,4	2,0—3,0	—	—
		» Люберец . .	—	Ок. 3,0	15,0—55,0	Ок. 400
3	Почва черноземной зоны	Ок. Винницы . .	Ок. 0,2	—	Ок. 40,0	Ок. 350
		» Мироновки	—	—	» 50,0	—
		» Глазуновки	Ок. 0,1	—	» 45,0	Ок. 250
		» Самары . . .	0,1—1,5	1,2—4,0	10,0—17,0	—
4	Почва буроземной зоны и краснозема	Южный берег Крыма	0,1—0,2	—	20—7,5	Ок. 200
		Черноморск. берег Кавказа .	0,1—0,2	—	11,0—20,0	—
5	Почва сероземной зоны	Голодная Степь	0,1—0,2	—	0,4—4,0	—
		Ок. Ташкента .	0,1—0,4	—	—	—
		» Фрунзе . .	0,1—0,3	—	0,7—6,0	30,0—304,0
6	Высокогорные почвы	Алагез, высота 3 500—4 100 м	0,1—0,3	—	—	—
		Альпийский луг	Ок. 0,3	—	—	—

ном состоянии. На севере нет достаточного тепла для их размножения, на юге сильно нагревающиеся почвы весьма быстро пересыхают и это ограничивает размножение термофилов. Может быть, лишь в отдельных очагах, подобных рисовникам, создаются условия, достаточно благоприятные для их размножения.

Де-Крюи полагал, что термофилы являются формами, замещающими на юге мезофильную микрофлору в случае повышения температуры почвы. Это предположение, обоснованное на общебиологическом принципе, должно, однако, отпасть после доказанной нами приспособительной реакции к условиям климата у основной массы почвенного микронаселения.

Мероприятия, связанные с окультуриванием почвы, особенно с внесением навоза, богатого термофилами, вызывают возрастание числа термофильных микробов. Это дало нам основание рекомендовать биологическую пробу на степень окультуренности почвы, судя по богатству почвы термофилами.

Дадыкин [2] и Пушкинская [4], использовавшие учет термофилов при анализе почв севера, вполне подтвердили наши заключения.

В 1939 г. появилась работа Waksman, Umbrett и Cordon [20], в которой был изучен ряд почв Нью Джерсейской опытной станции, различно удобрявшихся в течение 30 лет. Хотя авторы не подчеркивают этого, но из приведенного материала видно, что почвы, удобрявшиеся

* Данные Дадыкина [2].
** Пушкинской [4].

навозом, более богаты термофилами. Помимо этого отмечается, что число термофилов в почве в общем не константно и значительно варьирует в течение года.

Расхождение, имеющееся в наших выводах и в работе американских исследователей, мы объясняем двумя основными причинами. Во-первых, Ваксман с сотрудниками при проращивании чашек Петри пользовался термостатом на 50°, а не на 60°. Как это видно из наших работ, при 50° могут расти многие мезофильные бактерии южных почв. То же самое отмечает Былинкина и Макарова [1], работавшие с микрофлорой навоза.

Во-вторых, термофильные бактерии вносятся в почву с частицами органических удобрений и расположены в почве гнездами. Поэтому, как мы имели случай неоднократно убедиться, анализируемые образцы почвы с одного и того же поля могут дать весьма разные показатели. Требуется весьма частое повторение анализов при установлении возможной динамики размножения термофилов в почве. Это лишь позволяет безошибочно отбросить возможные от вышеотмеченной причины случайные отклонения. В работе же Ваксмана исследования почвы проводились один раз в сезон.

Только что высказанным соображением можно объяснить иногда отмечавшееся Ваксманом большое богатство весенних проб почвы термофильными бактериями, по сравнению с летними.

Ряд специальных опытов, описываемых ниже, убедил нас в правоте нашей точки зрения о латентном состоянии термофилов в почве.

Размножение термофильных бактерий в почве

Для почв даже субтропической зоны температура в 40° может считаться максимальной. В слое 0—20 см в жаркое время года подобный подъем температуры в течение дня отмечается лишь на несколько часов [1]. Более сильный нагрев поверхностного слоя возможен, но он весьма быстро иссушает почву и развитие микроорганизмов приостанавливается.

Для проверки способности термофилов расти в почве при различных температурных условиях был поставлен ряд опытов, из которых в данной работе мы приводим лишь два. В первом из них почва Московского Ботанического сада, содержавшая некоторое количество термофилов, была удобрена 0,5% пептона и увлажнена до 60% от полной влагоемкости. В таком состоянии она поддерживалась в течение всего опыта.

Отдельные колбочки с почвой были поставлены в различные температурные условия, при которых и простояли 2 месяца. По истечении данного срока в каждом образце почвы были учтены методом посева на МПА мезофильные и термофильные микроорганизмы. Как видно из табл. 2, несмотря на благоприятные условия, в почве, стоявшей при 32 и даже 40°, количество термофильных бактерий практически не изменилось. При более высокой температуре в 53° они оказались преобладающей микрофлорой. Мезофильные бактерии в последнем случае были сильно подавлены.

Таким образом для развития термофилов нужна довольно высокая температура, практически приводящая в естественной обстановке к быстрому высушиванию почвы.

Второй аналогичный опыт был проведен с почвой люберецких полей орошения, весьма загрязненных и поэтому богатых термофилами. В данную почву был внесен 1% пептона, после чего она выдерживалась

[1] См. данные метеорологических станций Средней Азии.

Таблица 2

Размножение термофильных микроорганизмов в почве при разных температурах

№ п/п.	Вариант опыта	Количество мезофилов на 1 г почвы	Количество термофилов на 1 г почвы
1	Исходная почва	3 500 000	800
2	Почва, находившаяся при 32° . . .	37 500 000	1 200
3	» » » 40° . . .	50 000 000	1 000
4	» » » 53° . . .	10 000	6 500 000

в термостате при 40°. Влажность почвы поддерживалась постоянной (60% от полной влагоемкости). Периодически из опытной почвы делались посевы на МПА, причем часть чашек проращивалась при 30°, вторая при 54° и третья при 60°. Как показывают данные табл. 3, мезофильная микрофлора в почве сильно увеличилась. Сильно возросло число термотолерантных бактерий, могущих развиваться при 54°. Вместе с тем типичные термофилы, растущие при 60°, численно не изменились. Имеющиеся в таблице отклонения носят случайный характер и в общем свидетельствуют о пребывании термофильной микрофлоры в покоящемся состоянии.

Таблица 3

Размножение мезо- и термофильных микроорганизмов в подзолистой почве люберецких полей орошения

№ п/п.	Время, истекшее с начала опыта	Количество микроорганизмов при выдерживании чашек Петри при температуре		
		30°	54°	60°
1	Исходный материал	1 182 тыс.	914 тыс.	842
2	7-й день	8 140 »	3 900 »	130
3	14-й »	12 150 »	2 950 »	240
4	21-й »	2 493 »	1 918 »	1 400
5	35-й »	1 020 »	6 630 »	1 300

Температура 40°, как уже отмечалось, достаточно высока даже для южных почв. Дальнейшее ее повышение неизбежно приводит к высушиванию почвенного слоя и общей депрессии биологических процессов. Совершенно очевидно, что при этой в общем благоприятной обстановке в течение целого месяца число термофилов не возросло.

В свете полученных данных, между прочим, совершенно понятными становятся результаты, полученные Ваксманом и его сотрудниками. Учет, производящийся при 50°, выявляет не только термофильную микрофлору, но при данных условиях прорастает значительное число мезофилов, адаптированных к перенесению повышенных температур.

Полевые наблюдения над динамикой числа термофилов (растущих при 60°) были нами проведены под Москвой и во Фрунзе (Киргизия). Они вполне подтвердили, что в течение вегетационного периода число зародышей термофильной микрофлоры практически остается без изменений.

Выводы

В настоящей работе дискуссируется вопрос о распространении и размножении термофильных микроорганизмов в почве. Авторы считают термофильную микрофлору почвы, способную развиваться при 60°, для почвы не характерной и полагают, что она в основном занесена челове-

ком при окультуривании полей с органическими удобрениями. Небольшое загрязнение целинных почв, возможно, имеет эоловое происхождение. Представители данных микроорганизмов находятся в почве в латентном состоянии.

Поскольку в литературе высказывались иные мнения, были проведены соответствующие экспериментальные работы. Они показали, что при наличии питательного материала и достаточной влажности при 40° за 1—2-месячный период число микробов почвы, растущих при 60°, численно заметно не увеличивается. Бактерии, развивающиеся при 54° (термотолерантные формы), в этих условиях довольно энергично размножались. Отмеченным объясняется, почему некоторые исследователи, снижая температуру термостата до 50°, при учете термофилов обнаруживали в течение вегетационного периода нарастание их числа в почве.

При 50° в лабораторной обстановке шло сильное размножение почвенных термофилов.

Полевые наблюдения, проведенные на севере под Москвой и на юге в Киргизии, позволяют заключить, что в течение летнего периода число термофильных бактерий в почве существенно не меняется. На севере температура почвы слишком низка, на юге при продолжительном сильном нагревании почв, в силу их быстрого иссушения, приостанавливается жизнедеятельность микроорганизмов.

В отдельных постоянно влажных очагах (например рисовниках), возможно, и происходит размножение термофилов, но соответствующими данными авторы не располагают.

Институт микробиологии Академии Наук СССР
и Центральный санитарный институт
им. Эрисмана
Москва

Получено 10. VI. 1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Былинкина В. Н. и Макарова М. Н. Аммонифицирующие бактерии в навозе. Тр. Ин-та с.-х. микробиологии, т. VI, 22—40, 1938.
2. Дадыкин В. П. Диагностика окультуренности почв Кольского полуострова при помощи термофильных бактерий. Докл. С.-х. акад. им. Ленина, № 3, 42—44, 1943.
3. Егорова А. А. Термофильные бактерии в Арктике. ДАН СССР, № 8, 647—644, 1938.
4. Пушкинская О. И. Микробиологическая характеристика почв Игарки. Труды Ин-та полярного земледелия. 1939.
5. Blau O. Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien auch derjenigen mit hohen Temperaturen. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 15, S. 97, 1906.
6. Feirer W. Studies of some obligate thermophilic Bakteria from Soil. Soil Sci., v. 23, p. 47, 1927.
7. Koch A. u. Hoffmann C. Ueber die Verschiedenheit der Temperaturaussprüche thermophiler Bakterien im Boden und in künstlichen Nährsubstraten. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 31, S. 433, 1911.
8. Krohn V. Studien über thermophile Schizomyceten. Ann. Acad. Sci. Fenn., Ser. A. 21, № 3, S. 1—125, 1923.
9. De Kruyff E. Les bactéries thermophiles dans les tropiques, Ctbl. Bakt., Abt. II, 26, S. 65, 1910.
10. Mac Fadyen and Blaxall F. Thermophilic Bacteria, J. Path. and Bakt. v. 3, 67, 1894.
11. Migula C. Ueber die Tätigkeit der Bakterien in Waldboden. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 13, S. 175, 1904.
12. Negre L. Bactéries thermophiles des sables de Sahara. C. R. Soc. Biol,, 74, p. 814, 1913.
13. Negre L. Thermophilic Bacteria from the Waters of Figuif. C. R. Soc. Biol., 74, p. 867, 1913.
14. Noak K. Beiträge zur Biologie der thermophilen Organismen. Jahrb. wiss. Bot., B. 5, S. 513, 1913.
15. Oprescu V. Studien über thermophile Bakterien, Arch. f. Hyg., B. 33, S. 164, 1898.
16. Rabinowitsch L. Ueber die thermophilen Bakterien. Z. Hyg., 20, S. 155, 1895.
17. Sames T. Zur Kenntnis der bei höherer Temperatur wachsenden Bakterien und Streptothrix Artes. Z. Hyg., 33, S. 313, 1900.

18. Schillinger A. Ueber thermophile Bakterien. Hyg. Rundsch., 8, S. 568, 1898.
19. Tsiklinsky P. Sur la flore microbienne thermophile du canal intestinal de l'homme. Ann. de l'Inst. Pasteur, v. 17, p. 217, 1903.
20. Waksman S., Umbrett W. and Cordon T. Thermophilic Actinomycetes and Fungi in Soils and Compost. Soil Sci., 47, p. 37, 1939.

THERMOPHILIC MICROORGANISMS OF SOIL AND THE CAUSES OF THEIR SPREADING

E. N. Mishustin and *O. I. Vassilieva*

Summary

The report discusses the question of the spreading and propagation of thermophile microorganisms in soil. The authors consider the thermophile soil flora, able to develop at 60° C, as not actually typical of soil they think that it has been introduced into the soil mainly by man with organic manure in the process of land cultivation. The relatively small contamination of virgin soils is possibly of aeolic origin. The representatives of these microorganism exist in soil in a latent condition.

Since contrary opinions have been expressed in the literature of the question, the authors proceeded to study it experimentally. The experiments showed that in the presence of nutrient material and of sufficient moisture the numbers of the microbes, able to grow at 60°, do not visible increase if they are incubated at 40°. Bacteria, developing at 54° (thermotolerant forms) show a relatively intense growth under similar conditions. This explains why some workers incubating their cultures at 50° found in counting the thermophiles that their number increased in soil during the period of vegetation.

At 50° under laboratory conditions an intense proliferation of soil thermophile microbes was observed.

Field observations both in the North (in the vicinity of Moscow) and in the South (in Kirghisia) permit to draw the conclusion that in the course of the summer period the numbers of thermophile microbes in soil do not experience any considerable changes. In the North the temperature of the soil is too low, in the South, due to a prolonged powerful heating of the soil leading to its drying in a relatively short time, the active life of microorganisms soon comes to a stop.

It is possible that in some particularly moist soils (*e. g.* in rice-fields) proliferation of thermophiles is going on, but the authors have no data concerning this at their disposal.

Institute of Microbiology
of the Academy of Sciences of the USSR
Moscow

ХОНДРИОСОМНЫЙ АППАРАТ В КЛЕТКАХ НИЗШИХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

М. Н. Мейсель и *Т. М. Кондратьева*

Если грибная клетка являлась объектом разнообразных цитологических интересов, то в патологии синезеленых водорослей и бактерий всегда доминировали проблемы ядра. На остальные клеточные органоиды и в частности на хондриосомы обращалось значительно меньше внимания. Между тем накопление данных в этой области представляет несомненный интерес с филогенетической точки зрения. Хондриосомный аппарат, открытый в клетках животных в 1897 г. (Benda [5]), был обнаружен в 1904 г. Meves [13] в растительных клетках, и лишь в 1913 г. Guilliermond [8] нашел хондриосомы в клетках разнообразных мицелиальных грибов и дрожжей. Почти одновременно с этим Janssens с сотрудниками [10] также описали хондриосомный аппарат у дрожжей. Gonçalves da Cunha [7] признал мелкую зернистость в районе центрального тела у синезеленых водорослей за хондриосомы. Наиболее широкая постановка вопроса о хондриосомном аппарате у бактерий принадлежит Алексееву [4].

Хондриосомы могут быть обнаружены прижизненной или суправитальной окраской зеленым янусом, либо после специальных фиксаций с последующей окраской (методы Regaud, Meves, Benda), либо методом импрегнации их осьмиевым ангидридом или азотнокислым серебром. Прижизненная окраска очень слабыми растворами зеленого януса весьма специфична и в сочетании с методикой Regaud дает наиболее достоверное представление о хондриосомном аппарате клетки. Этими методами, в основном, мы и пользовались в данной работе. Очень сильные разведения краски зеленый янус готовились на фосфатных буферах (по Михаэлису) с тем, чтобы получить кислые, основные и нейтральные растворы. По нашим наблюдениям, хондриосомы окрашиваются в зависимости от типа клетки при разных pH.

Ниже приводятся в кратком изложении новые факты, касающиеся строения и распространения хондриосомного аппарата в клетках низших растительных организмов.

Хотя обычно хондриосомный аппарат у грибов представляет собой совокупность отдельных зернистых, палочковидных и нитевидных структур, в некоторых случаях он принимает более сложную форму анастомозирующих нитей, образующих иногда сплошные сетевидные сплетения. Такие сплетения чаще всего обнаруживаются в молодых клетках дрожжевых организмов из родов Saccharomycodes и Nadsonia (рис. 1, *3*). У Nadsonia fulvescens и у некоторых других дрожжевых форм иногда можно наблюдать в анаэробных условиях, наряду с гипертрофией отдельных хондриосом, также и дифференцировку их в более темно и более светло окрашивающиеся участки, напоминающие части externum и internum в аппарате Гольджи животных клеток. При спорообразовании хондриосомы, как это еще показал Gulliermond [9], переходят в значительной своей части в споры.

Недавно Joyet-Lavergne [11, 12] обнаружил хондриосомы в спорах у Nadsonia fulvescens и Saccharomycodes Ludwigii и сообщил о том, что половой диморфизм спор связан с разным количеством и различной

окислительной активностью заключенных в них хондриосом. Brandt [6], окрашивая Saccharomyces прижизненно зеленым янусом, пришел к заключению, что при спорообразовании у дрожжей хондриосомы оста-

Рис. 1. Хондриосомный аппарат растительных организмов

1. Schizosaccharomyces octosporus — вегетативная клетка. *2.* То же сумка со спорами. *3.* Nadsonia fulvescens — прорастающая спора. *4.* То же вегетативная клетка в процессе брожения. *5.* То же молодая растущая клетка. *6.* Endomyces Schoenii. *7* и *8.* Mucor racemosus—мукоровые дрожжи. *9.* Oscillaria sp.—центральное тело. *10.* То же хондриосомы. *11.* Pontothrix longissima. *12* и *13.* Oscillospira из кишечника морской свинки. *14—15.* То же из кишечника Blennius. *16, 17* и *18.* Lactobacillus Delbrueckii. *1—8* — Фиксированные препараты, окрашенные по Regaud. *9—11* и *13—18* — Прижизненная окраска зеленым янусом. *12* — Фиксация по Benda — окраска генциан-виолет

ются вне спор. Этот вывод явно ошибочен и основан на несовершенной технике. Наши наблюдения показывают, что хондриосомы в спорах дрожжей всегда выявляются как прижизненной окраской, так и после фиксации. В процессе спорообразования отдельные хондриосомы, так же как и отдельные участки цитоплазмы, могут остаться вне спор, но сформированные споры всегда снабжены этими органоидами. Даже при

образовании многочисленных спор, например восьми у Schizosaccharomyces octosporus в каждой споре отчетливо выявляются хондриосомы (рис. 1, *2*). Прорастание спор сопровождается резким увеличением хондриосомного аппарата, нередко приобретающего сетевидный характер (рис. 1, *5*). Активирование клеточной жизнедеятельности постоянно связано с гипертрофией или гиперплазией хондриосомного аппарата. Перестройка этого аппарата в процессе брожения и при B_1 — гипервитаминозе нами была в свое время детально описана [1, 2]. Она наблюдается не только у дрожжевых организмов, но и у мукоровых грибов, дрожжеподобные бродящие формы которых также имеют крупные гипертрофированные хондриосомы (рис. 1, *7, 8*). Апикальные части растущего мицелия у Endomyces Magnusii обычно наполнены огромным количеством скопляющихся здесь хондриосом, придающих этим участкам выраженную хромофилию. Самые мелкие дрожжевые почки, небольшие боковые выросты мицелия, тончайшие грибные гифы всегда содержат хондриосомы (рис. 1, *6*).

Прижизненное окрашивание слабым раствором зеленого януса выявляет в клетках синезеленой водоросли Oscillaria мелкую митохондриальную зернистость, более или менее равномерно распределенную по цитоплазме. Гранулы этой зернистости обладают характерной для хондриосом способностью избирательно аккумулировать краску зеленый янус и восстанавливать ее до розового деривата. Фиксация и окраска по Regaud воспроизводят эту митохондриальную зернистость. Более концентрированные растворы зеленого януса окрашивают центральные тела в виде гранулярных тяжей, тянущихся непрерывно из одной клетки в другую. Эти тяжи состоят как из крупных, так и из мелких гранул. Последние могут имитировать митохондрии. Они-то, повидимому, и были ошибочно приняты Gonçalves da Cunha за хондриосомы у синезеленых водорослей. Совершенно такая же картина в отношении хондриосомного аппарата наблюдается у бесцветных водорослей из группы Schizophyceae. Нами был исследован Pontothrix longissima, организм, весьма распространенный в морях (Надсон и Красильников, [3]). Хондриосомы хорошо окрашиваются прижизненно зеленым янусом и краской генциан-виолетт после фиксации по Benda и у Oscillospira из кишечника морской свинки, а также у очень близкого к ней организма, найденного нами в массовом количестве в кишечнике черноморской рыбы «собачки» Blennius sanguinolentus.

У крупных спирилл, свободно живущих в воде Черного моря, прижизненно окрашиваются смесью нейтральной красной и зеленого януса волютин — в красный и хондриосомы — в синий цвет. Будучи окрашены, спириллы продолжают активно двигаться.

Для получения окраски хондриосом у бактерий, культивируемых на лабораторных питательных средах, необходимо предварительно отмыть культуру от среды и продуктов обмена веществ. Это достигается двукратным промыванием стерильной водопроводной водой с помощью центрифуги. После такого промывания удается окрасить зеленым янусом хондриосомы у Lactobacillus Delbrueckii, а смесью нейтральной красной и зеленого януса окрашиваются одновременно и волютин и хондриосомы.

Широкое распространение хондриосомного аппарата в клетках высших и низших животных и растительных организмов указывает на его фундаментальное значение для клеточной жизнедеятельности. Это явствует также из его поведения в процессах почкования, спорообразования и прорастания спор. Все наблюдения и факты свидетельствуют о том, что хондриосомы не возникают de novo, а передаются вновь возникающим клеткам. Способность хондриосом разнообразных клеток элективно аккумулировать и восстанавливать краску зеленый янус указывает на общность или во всяком случае на близость физико-химиче-

ской структуры этих органоидов и на сходное их функциональное значение.

Мы считаем, что хондриосомный аппарат является структурным образованием, присущим любой клетке, имеющим назначение временно аккумулировать либо определенные субстраты, подвергающиеся энзиматическим воздействиям, либо присутствующие в клетках в весьма малых количествах биокаталитические вещества. Весьма вероятно, что хондриосомы периодически аккумулируют то одно, то другое, а то и обе группы этих веществ одновременно. Имеется основание подозревать, что хондриосомы, их белковая часть, могут выступать как носители тех или иных простетических групп, образуя с ними типичные ферментные системы.

Наличие хондриосом у организмов, не обладающих типичным дифференцированным ядром, заставляет считать, что хондриосомный аппарат филогенетически является весьма древней дифференцировкой клеточного протопласта.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 20. V. 1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Мейсель М. Изменения хондриосом дрожжевых организмов при дыхании и брожении, ДАН, т. 20, 481, 1938.
2. Мейсель М. О функциональном значении хондриосом. Бюлл. экспер. биолог. и медиц., т. XIX, вып. 1—2, стр. 16, 1945.
3. Надсон Г. и Красильников Н. Строение и развитие Pontothrix longissima Nads. et Krassiln. (Chlamydothrix longissima Molisch) бесцветной водоросли из группы Schizophyceae. ДАН, 1, 243, 1932.
4. Alexeieff A. Sur la structure des Bactéries. Les mitochondries et les grains métachromatiques chez les Bactéries et quelques autres protistes. C. R. Soc. Biol., 89, p. 728, 1923.
5. Benda C. Die Mitochondria. Erg. Anat. Entw., 127, S. 741, 1903.
6. Brandt K. Physiologische Chemie und Cytologie der Presshefe, Protoplasma, 36, S. 77, 1942.
7. Gonçalves da Cunha A. Sur la signification du corps central des cyanophycées. C. R. Soc. Biol., 118, p. 1123, 1935.
8. Guilliermond A. Sur les mitochondries des champignons. C. R. Soc. Biol., 74, p. 618, 1913.
9. Guilliermond A. Nouvelles observations sur le chondriome de l'asque Pustularia vesiculosa. C. R. Soc. Biol., 55, p. 646, 1913.
10. Janssens F. van de Putte E. et Helsmortel J. Le chondriome dans les champignons. La Cellule, 28, p. 445, 1913.
11. Joyet-Lavergne Ph. Nouvelles méthodes générales pour la recherche du chondriome. Leur application à l'étude des champignons. La Cellule, p. 43, 1934.
12. Joyet-Lavergne Ph. Recherches sur les caractères physico-chimiques de la sexualité chez les champignons. Protoplasma, B. 26, 1, 1936.
13. Meves F. Ueber das Vorkommen von Mitochondrien bzw. Chondromiten in Pflanzenzellen. Ber. Dtsch. bot. Ges., 22, S. 284, 1904.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ БОГАТСТВА ВОДОЕМА БИОГЕННЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ

С. И. Кузнецов

При определении трофии водоема последний обычно характеризуется по наличию азота, фосфора и кальция. Количественная характеристика водоема по содержанию этих элементов дает основание судить о возможной величине первичной продукции.

Однако основная масса азота и фосфора в водоеме находится в виде органических соединений и данные обычно применяемых анализов минерального азота и фосфора далеко еще не характеризуют количества этих веществ, доступных для фитопланктона.

С нашей точки зрения, для характеристики режима биогенных элементов в водоеме должны быть определены следующие четыре величины: в каких элементах нуждается фитопланктон для своего развития в водоеме, каков запас биогенных элементов, имеются ли в водоеме в достаточном количестве остальные компоненты солевого состава, типа микроэлементов, стимулирующие или задерживающие развитие фитопланктона, и, наконец, насколько интенсивно идет в эпилимнионе регенерация биогенных элементов в результате жизнедеятельности фитопланктона и бактериального населения.

1. Вопрос о том, какие биогенные элементы для развития фитопланктона находятся в первом минимуме, может быть легко решен при помощи методики определения гидробиологической производительности воды в модификации, предложенной Францевым [6], когда в качестве показательного микроорганизма используется Scenedesmus.

2. К учету запаса питательных элементов можно подойти на основании изученных Митчерлихом закономерностей о совокупном действии факторов на развитие растения. Митчерлих дает формулу определения запаса биогенных элементов в почве в зависимости от урожая и дозы удобрений, где

$$x = \frac{\lg A - \lg (A - y)}{c}.$$

Мы приняли, что вышеприведенные соотношения будут справедливы также и по отношению к развитию Scenedesmus. Упрощая методику анализа, мы определяли не запас отдельных биогенных элементов, а некоторую суммарную величину, приняв за таковую 1 мг азота, 2 мг фосфора, 4 мг калия и 1 мг железа, то, что, по экспериментальным данным, является оптимальной дозой для развития большинства планктонных форм (Успенский [4], Гусева [3]).

Очевидно, что в естественных условиях могут быть отклонения от указанных соотношений между азотом, фосфором, калием и железом, но, поскольку развитие растения зависит от суммы всех факторов, обусловливающих рост, то мы считали возможным выражать в условных единицах всю эту сумму факторов.

Таким образом для определения запаса биогенных элементов нам нужно было знать: A — это максимальный урожай. За эту величину мы принимали прирост Scenedesmus в опыте на естественной воде с добавкой оптимальной дозы азота, фосфора, калия и железа; y — это

урожай Scenedesmus на естественной воде за счет той суммы биогенных элементов, которая присутствовала в воде в момент анализа и которую мы определяем, обозначая через *x*, и, наконец, постоянную величину *c*. Митчерлих определяет эту величину отдельно для каждого биогенного элемента, мы же, упрощая методику, определяли ее путем опыта для всей суммы биогенных элементов и нашли равной 0,57.

3. Развитие как фитопланктона, так и высшей растительности, с одной стороны, в сильной степени стимулируют микроэлементы, как: бор, молибден, ванадий, медь, цинк и т. д., с другой стороны, повышение концентрации тех же элементов выше некоторого предела, скажем, повышение концентрации марганца выше 0,1 мг/л, по данным Гусевой [3], способно вызвать сильную депрессию в развитии синезеленых. Нас же на данном этапе работы интересовала суммарная величина отрицательного или положительного влияния всех этих факторов. Для этого мы делали одновременный посев Scenedesmus на несколько видоизмененную питательную среду № 3 Успенского [4] с оптимальным содержанием биогенных элементов, приготовленную на бидестиллированной воде, и на естественную испытуемую воду, куда была добавлена та же оптимальная доза азота, фосфора, калия и железа.

Отношение прироста Scenedesmus на естественной воде к тому, что мы наблюдаем на среде Успенского, мы и обозначаем, как «фактор оптимальности».

Если это отношение больше единицы, то оно показывает, что рост на естественной воде шел лучше, чем на синтетической минеральной среде с оптимальным содержанием биогенных элементов, т. е. в естественной воде присутствовали оптимальные факторы стимулирующие рост, и обратно.

4. Чтобы подойти к учету количества биогенных элементов, которые могут быть поглощены фитопланктоном из общего запаса или, обратно, регенерированы за счет процессов распада органического вещества в водной массе, можно использовать методику Винберга [1, 2] по учету динамики органического вещества в водоемах.

Принимая, что на сжигание 0,844 мг углеводов, 0,347 мг жира и 0,572 мг белка до минеральных компонентов расходуется по 1 мг кислорода, а пресноводный фитопланктон состоит в среднем на 13,7% из белка, 1,3% из жиров и 85% из углеводов, мы можем легко рассчитать интересующую нас величину. Именно, поглощение 1 мг кислорода соответствует деструкции 0,80 мг органического вещества или регенерации 0,05 мг азота и 0,006 мг фосфора.

Таким образом, зная суточную величину фотосинтеза и деструкции органического вещества, выраженную в кислороде по наблюдениям в озере, мы можем легко высчитать и суточный круговорот биогенных элементов.

Методика

В качестве показательного организма в наших исследованиях был взят Scenedesmus quadricauda. Мы считаем возможным с известным приближением принять, что потребность в питательных элементах для этого организма будет соответствовать таковой для большинства представителей озерного фитопланктона. В этом, как видно из табл. 1, нас убедили наши наблюдения на рыбоводных прудах в Обираловке.

По сравнению с оригинальной методикой Францева [6] нами были сделаны некоторые упрощения.

Испытуемая вода пропускалась через стеклянный фильтр № 3, чтобы удалить планктон, затем разливалась по 10 см³ по пробиркам, которые затыкались ватными пробками. Если нужно было определить,

Таблица 1

Потребность в биогенных элементах для различных форм фитопланктона

Прирост в % к контролю, который принят за 100%, при добавке биогенных элементов

Организмы	11/VI				11/VIII		
	N	P	Fe	N, P, Fe	N	P	N, P, Fe
Scenedesmus	147	184	135	1 600	730	100	1 560
Anabaena	157	228	65	157	190	110	105
Microcystis	—	—	—	—	130	119	195
Desmidiaceae	—	—	—	—	490	100	640
Chlamydomonas	275	275	475	706	730	90	1 250
Baccillariales	—	—	—	—	880	91	1 260
Cyclotella	133	33	108	32	—	—	—
Synedra	950	100	200	1 150	—	—	—
Ankistrodesmus	47	40	55	830	400	115	2 800
Actinastrum	88	100	50	420	460	85	890
Oocystis	175	100	400	400	400	75	200
Pediastrum	40	110	70	700	—	—	—
Polyedrium	72	72	50	280	440	320	1 200

каких элементов нехватает для развития планктона, то в испытуемую воду делались соответствующие добавки так, как это следует, согласно методике определения гидробиологической производительности воды (Францев [6]). Схема опыта:

1 — контроль; 2 — N; 3 — P; 4 — K; 5 — Fe; 6 — N, P, K, Fe.

Опыт ставился в двойной повторности. Пробирки заражались чистой культурой Scenedesmus и выставлялись на окно, на рассеянный свет. Длительность опыта 5 дней.

Если нужно было определить запас биогенных элементов и «фактор оптимальности», то схема была несколько иная:

1 — естественная вода без добавок;

2 — естественная вода + N, P, K, Fe;

3 — среда Успенского [4] N, P, K, Fe, а именно: $MgSO_4$ — 20 мг, азота $Ca(NO_3)_2$ — 1 мг, фосфора Na_2HPO_4 — 2 мг, калия K_2SO_4 — 4 мг, железа $Fe_2(SO_4)_3$ — 1 мг, CaO — 40 мг, дестиллированной воды — 1 л, газообразной CO_2 до pH = 7.

Учет посевного материала, а также развития Scenedesmus можно производить, или подсчитывая клетки в определенном объеме при помощи счетной камеры Бюркера, или путем определения общего количества органического вещества методом сжигания хромовой смесью. Последняя методика, пожалуй, при достаточной точности дает возможность быстрее произвести анализ. Все содержимое пробирки, где шло развитие Scenedesmus, тщательно взбалтывается и переводится в центрифужную пробирку. После центрифугирования раствор сливается с осадка водорослей при помощи сифона. В пробирку добавляется точно отмеренное количество $^1/_{10}$ *N* раствора $K_2Cr_2O_7$ в крепкой серной кислоте (2—3 см³ в зависимости от количества водорослей). Раствор перемешивается запаянным стеклянным капилляром и нагревается 30 мин. в кипящей воде. Две пробирки остаются в качестве контроля без добавки водорослей, по ним устанавливается каждый раз титр хромовой смеси.

По окончании окисления органического вещества содержимое пробирки переводится в эрленмейеровскую колбу на 60—100 см³, пробирка тщательно ополаскивается дестиллированной водой и промывные воды сливаются в ту же колбу. Избыток $K_2Cr_2O_7$ определяется иодометрическим титрованием. По разности вычисляется количество $K_2Cr_2O_7$, по-

шедшего на окисление. Органическое вещество выражается в кислороде.

Экспериментальная часть

Исследования наши были проведены по ряду подмосковных озер. Деятельное участие в работе принимала А. Я. Мусатова. Первый вопрос был, какие биогенные элементы необходимы в первую очередь для развития планктона по разным водоемам и как в течение года эта потребность изменяется.

Анализы проводились в 1937 г. регулярно по Черному озеру, а в 1940 г.— по Белому в Косине. Данные анализов по ряду подмосковных озер сведены в табл. 2, из которой видно, что в большинстве случаев из отдельных элементов наибольшая потребность выражена в азоте. Так, по Белому озеру в 1940 г. азот был в первом минимуме с 25/IV по 7/IX, по Святому и Черному в середине лета и по Глубокому к осени. Однако в ряде случаев наибольшая потребность бывает выражена в фосфоре — Черное озеро в 1937 г. и Нерское в 1940 г. Интересно отметить, что в весенние месяцы по Черному и Святому озерам наибольшая потребность была выражена в калии.

Таблица 2

Потребность в биогенных элементах воды подмосковных озер

Озера	Прирост Scenedesmus в %-к контролю при добавке:					Запас биогенных элементов	Фактор оптимальности	Фитопланкт. в млн. на л
	Дата	N	P	K	N, P, K, Fe			
Святое	27/IV	115	127	161	156	—	—	—
Черное	28/IV	119	132	201	164	—	—	—
Черное	17/VI	215	116	105	241	—	—	—
Круглое	7/IX	156	106	114	140	1,25	0,66	2,19
Долгое	7/IX	107	87	90	108	2,51	0,66	0,23
Нерское	7/IX	160	175	117	185	0,73	1,19	10,52
Белое	7/IX	101	86	93	190	1,72	1,07	1,20
Черное	7/IX	145	105	107	190	0,82	1,64	8,60
Святое	7/IX	214	133	157	220	0,57	1,58	—
Б. Медвежье	16/X	84	86	102	96	3,33	0,85	1,80
М. Медвежье	16/X	73	93	93	90	—	0,65	—
Биссерово	16/X	104	104	115	120	1,02	0,88	1,92
Глубокое	29/IX	116	98	108	144	0,55	0,74	—

Запас биогенных элементов нами был также определен по Белому озеру в Косине несколько раз в течение вегетационного периода и по ряду подмосковных озер 7/IX 1940 г. Некоторые добавочные анализы были проведены в конце сентября и середине октября. В евтрофном Белом озере в Косине, во время весенней циркуляции, в эпилимнионе запас биогенных элементов был почти вдвое больше величины, принятой нами за единицу (1 мг N; 2 мг P; 4 мг K и 1 мг Fe) (25/IV — 1,52; 10/V — 1,98; 10/VI — 1,23). Затем, по мере развития планктона, эта величина спустилась, примерно, до 0,5 и вновь поднялась до 1,7 во время осенней циркуляции (19/VII — 0,52; 29/VII — 0,48; 13/VIII — 0,55; 29/VIII — 0,46; 7/IX — 1,72).

Сравнительные определения запаса биогенных элементов по ряду озер в период осенней циркуляции (табл. 2) показали, что в большинстве случаев, когда запас биогенных элементов выражался дробной величиной, мы наблюдали значительное развитие фитопланктона. Обратно, если запас велик, то обычно развитие фитопланктона было сравнительно невелико.

Расшифровать причины этих закономерностей в значительной мере удается, определяя фактор оптимальности. В самом деле, наиболее сильное развитие фитопланктона мы наблюдали там, где фактор оптимальности был больше единицы, то-есть в таких водоемах, как озеро Нерское и Черное в Косине. Очевидно, в воде были элементы, стимулирующие развитие фитопланктона.

Противоположная картина наблюдалась в озере Долгом из группы Мышецких озер. Здесь запас биогенных элементов равнялся 2,5, фактор оптимальности 0,66, а в связи с этим развитие фитопланктона было наиболее низким из всех обследованных озер — 230 тыс. организмов на 1 л при учете методом мембранных фильтров.

Наконец, последний момент, который, пожалуй, наиболее ярко может охарактеризовать интенсивность биологических процессов в водоеме,— это суточный круговорот биогенных элементов, как азота, так и фосфора. Регулярные наблюдения проводились нами в течение вегетационного периода 1940 г. в эпилимнионе Белого озера в Косине. Данные анализа приведены в табл. 3, из которой видно, что суточная продукция органического вещества, выраженная в кислороде, равнялась 4—5 мг на 1 л, что по вышеприведенным расчетам соответствует, примерно, 5 мг сухого вещества планктона на 1 л или 0,25 мг азота и 0,03 мг фосфора.

Таблица 3

Продукция и деструкция органического вещества в эпилимнионе Белого озера в мг O_2 в сутки

Дата	Фотосинтез	Деструкция	Разность
7/V	4,92	2,08	2,84
21/V	3,71	3,43	0,28
13/VI	3,56	3,65	—0,08
5/VII	6,54	6,73	—0,19
25/VII	3,39	4,04	—0,65
27/VIII	4,65	7,82	—3,17
10/IX	5,71	3,55	2,16
9/X	1,22	0,90	0,32
29/XI	0,36	0,52	—0,16

Регенерация органогенов за счет процессов деструкции в начале мая уже была вдвое меньше, в июне и июле, примерно, равнялась потреблению на развитие фитопланктона, в конце августа заметно превышала потребление и, наконец, в сентябре вновь была ниже потребления.

Таким образом суточные процессы обмена биогенных элементов выражаются весьма значительной величиной. Летом в Белом озере примерно половина запаса усвояемого азота участвует в суточном круговороте вещества.

Лимнологическая станция
Косино

Получено 10.V. 1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Винберг Г. Г. Тр. Лимн. ст. в Косине, вып. 18, стр. 5, 1934.
2. Винберг Г. Г. и Иванова А. И. Тр. Лимн. ст. в Косине, вып. 20, стр. 5, 1935.
3. Гусева К. А. Тр. Зоол. ин-та АН СССР, т. VII вып. 1, стр. 89, 1941.
4. Успенский Е. Е. Микробиология, т. I, стр. 89, 1932.
5. Успенский Е. Е. Микробиология, т. III, стр. 437, 1934.
6. Францев А. В. Микробиология, т. I, стр. 112, 1932.

A BIOLOGICAL METHOD FOR THE EVALUATION OF A WATER-RESERVOIR'S RICHES IN BIOGENIC ELEMENTS

S. I. Kusnetzow

Summary

The scheme of a test is reported which permits to evaluate by means of a biological technique the amount of stored biogenic elements in a water-reservoir, to establish the presence of factors, stimulating or depressing the development of phytoplancton, and to determine the daily raise of regeneration of the biogenic elements.

In most cases the greatest development of phytoplancton was observed in those lakes, the water of which contained substances stimulating this development, and accordingly the amount of biogenic elements stored in these lakes was lower.

In the White Lake near Kossino about one half of the store of assimilable nitrogen is involved in the daily metabolic circulation of this substance on summer days.

Limnological Station
Kossino

К ВОПРОСУ ОБ ОБРАЗОВАНИИ УГЛЕВОДОРОДОВ ИЗ ЖИРОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Г. Л. Селибер

Известно, что жиры растительные и животные могут быть превращены в нефть простой перегонкой под давлением. Предполагают, что в природе это превращение происходит под влиянием микроорганизмов при более низкой температуре, но оно совершается в более длительное время (Блюмер [2]).

Но если высказывались предположения, что превращение жиров в углеводороды, в нефть совершается при посредстве микроорганизмов, то не было конкретных указаний относительно того, каким группам микроорганизмов следует приписать эту роль. В 1926 г. Бастин и его сотрудники в США, а в нашем Союзе Гинзбург-Карагичева, а впоследствии Рейнфельд установили в нефтяных водах присутствие бактерий, восстанавливающих сульфаты. В 1928 г. мною в связи с выделением бактерий, разлагающих жир, из куска жира, всплывшего на поверхность Черного моря после землетрясения в Крыму в 1927 г.[1], было установлено разложение жира накопительными культурами десульфурирующих бактерий. Я тогда же, основываясь на факте наличия этих бактерий в нефтяных водах, высказал предположение о возможности участия этих бактерий в превращении жира в нефть. Мое предположение встретило возражение со стороны голландского исследователя Баарса, который в своей монографии о «Бактериях, восстанавливающих сульфаты», подтверждая мое утверждение о разложении жирных кислот бактериями, восстанавливающими сульфаты, приводит некоторые аргументы, говорящие против моего предположения. Последнее, однако, было мною подкреплено рядом экспериментальных данных и также теоретическими соображениями, приведенными в работе, выполненной мною совместно с Р. С. Кацнельсон и А. Н. Седых [6]. Еще в своей монографии об «Образовании и разложении жиров микроорганизмами» я, говоря о возможности участия микроорганизмов в образовании нефти из жира, привел результаты исследования Баха и Зирпа, обнаруживших изменения жира вареного мяса после его заражения пробой ила, взятой из очистительных бассейнов; разложение жира происходило в условиях отсутствия притока воздуха. Анализ измененного жира показал иодное число 90,8 вместо обычного для бычьего жира 32—48, число омыления 167,8 вместо обычного 190—200; авторы объясняют изменения чисел иодного и омыления образованием углеводородов.

В наших исследованиях мы также имели несколько случаев повышения иодного числа при разложении твердого животного жира бактериями, восстанавливающими сульфаты, но повышение иодного числа не всегда сопровождалось понижением числа омыления; с другой стороны, мы наблюдали пониженные числа омыления с низким иодным числом[2]. Приведем некоторые примеры. Из куска жира, всплывшего

[1] Кусок жира был передан мне покойным академиком Н. В. Насоновым.

[2] О присутствии углеводородов свидетельствует, конечно, главным образом пониженное число омыления, повышение иодного числа связано с образованием ненасыщенных связей.

после землетрясения, была выделена культура. Ею был заражен минеральный раствор с арахиновым маслом и мелом. Через 21 мес. исследовался остаточный жир. Во фракции до обработки кислотой[1] было получено: иодное число 102,7 и число омыления 177,8. Незараженный контроль, стоявший столько же времени, дал жир с иодным числом 89,0 и числом омыления 207,5. Числа иодные и омыления, полученные в культурах с коровьим и бараньим салом, приводятся в нижеследующей таблице.

Таблица 1

Результаты анализа остаточного жира культур с твердым жиром (засев культурами, полученными от засева жиром, всплывшим после землетрясения)

№ п/п.	Среда и возраст	Всего в г	Иодное число	Кислотное число	Эфирное число	Число омыления	Примечание
1	Минер. раствор + мел + + коровье сало. 24 мес.	6,02	110	33,6	167,4	201	Извлечение до обраб. кислотой
		0,45	—	124,5	—	—	Извлечение после обраб. кислотой
2	То же самое + 4% NaCl. 24 мес.	4,61	125,0	50,4	144,6	195,0	Извлечение до обраб. кислотой
		3,28	96,6	139,9	59,1	199,0	Извлечение после обраб. кислотой
3	Минер. раствор + мел + + баранье сало + 6% NaCl. 24 мес.	9,01	46,1	162,0	21,5	183,5	Извлечение до обраб. кислотой
		2,46	34,8	129,0	72,5	201,5	Извлечение после обраб. кислотой
4	То же самое + 8% NaCl. 24 мес.	8,50	53,5	72,8	115,2	188	Извлечение до обраб. кислотой
		5,39	31,0	152,8	33,2	196	Извлечение после обраб. кислотой
5	Минер. раствор + мел + + баранье сало. 30 мес.	—	77,0	68,3	102,7	171	Извлечение до обраб. кислотой
		—	32,2	178,0	12,0	190	Извлечение после обраб. кислотой

Нормальным иодным числом для коровьего сала считается 32—47, для бараньего сала 31,0—46,5, в остаточном жире мы имеем в ряде случаев повышенные иодные числа; в этой серии опытов, кроме самого низкого числа омыления (171), приводимого в таблице, было еще число омыления 89,6; оно было получено в остаточном жире культуры с бычьим жиром, залитым минеральным раствором и затем оливковым маслом; последнее, в которое мог попасть и кусок твердого жира, извлекалось отдельно, и его фракция, извлеченная после обработки кислотой, дала это пониженное число омыления.

Анализ остаточного жира культур с оливковым маслом с мелом, зараженных илом одесского залива, дал в одном случае для годовой культуры для фракции, извлеченной до обработки кислотой, иодное

[1] В наших исследованиях, особенно в культурах с мелом, после извлечения эфиром остаточного жира, часто оставалась твердая часть, не извлекавшаяся эфиром, последняя подвергалась действию 10% серной кислоты для того, чтобы выделить в свободном состоянии жирные кислоты, которые могли находиться в виде кальциевых и магниевых солей: в некоторых случаях после этого оставалась часть, не растворявшаяся в эфире. В жировом остатке после отгона эфира определялись числа кислотное, омыления и иодное. Твердый жир подвергался еще в ряде случаев обработке спиртом; в этом случае указанные константы определялись до и после обработки спиртом; при растворении в спирту в некоторых случаях оказалась часть, не растворенная в горячем спирте.

число 94,7 и число омыления 140,9, в другом случае для фракции, извлеченной до обработки кислотой, иодное число 81,6, число омыления 177,1, для фракции, извлеченной после обработки кислотой, число омыления 92,8.

Составные части с низкими числами омыления, следует полагать, находились в остатке с коровьим жиром, зараженных илом одесского залива; об этом свидетельствуют цифры табл. 2.

Таблица 2

Результаты анализа остаточного жира культур, полученных после заражения илом одесского залива

Среда	Иодное число	Кислотное число	Эфирное число	Число омыления	Примечание
	19,4	105,7	83,3	189,0	Извлечение до обраб. кислотой
	13,0	136,4	35,3	171,7	Извлечение после обраб. кислотой
Минеральный раствор + коровий жир	15,9	21,0	463,8	484,8*	После обраб. спиртом: части, извлеч. до обраб. кислотой
	11,1	38,7	161,9	200,6	части, извлеч. после обработки кислотой

В этом случае мы, повидимому, имеем первоначально смесь частей с низким и высоким числами омыления, потому что после обработки спиртом выделяются фракции с повышенным числом омыления. В этой серии опытов имеется также остаточный жир с числом омыления 147,1.

Одним из теоретических соображений, говорящих в пользу предположения об образовании бактериями, восстанавливающими сульфаты, углеводородов из жиров или жирных кислот, является следующее: если микроорганизм обладает способностью разлагать жиры или жирные кислоты и углеводороды, то вполне закономерным следует считать предположение, что последние являются промежуточным продуктом при разложении жира или жирных кислот микроорганизмом. Мы не останавливаемся здесь на возможной полимеризации продуктов распада жира. Следует иметь в виду, что в отношении разложения и также образования углеводородов различные штаммы могут вести себя различно. В своем последнем сообщении мы основывались на работе В. О. Таусона, показавшего, что бактерии, восстанавливающие сульфаты, разлагают углеводороды и нефть. В последнее время в США появились работы, подтверждающие факт, установленный В. О. Таусоном [8].

В прошлом году появилось краткое сообщение о том, что американским исследователям Jankowski и Zo Bell [10] удалось получить углеводороды из жирных кислот при помощи чистых культур бактерий, восстанавливающих сульфаты. Согласно этому сообщению, при выращивании бактерий, восстанавливающих сульфаты, в морской воде с каприновой кислотой было получено растворимое в эфире, неомыляемое маслоподобное вещество, в котором была идентифицирована смесь алифатических углеводородов от C_{10} до C_{25}. Этот опыт был повторен с нейтрализованными до pH = 7,0 кислотами уксусной, пропионовой, масляной, стеариновой и молочной. Таким образом высказанное мной вначале предположение, которое я старался подкрепить косвенными экспериментальными данными (потому что я в чистом виде углеводородов не выделял), в настоящее время получило прямое экспериментальное

* В этом и в некоторых других случаях, вопреки теоретическим соображениям, получились жировые вещества с большим числом омыления, т. е. с меньшим молекулярным весом после обработки, чем до обработки спиртом.

подтверждение с той оговоркой, что в нашем сообщении не была указана возможность синтеза из продуктов распада жирных кислот.

Конечно, жизнедеятельностью одних бактерий, восстанавливающих сульфаты, нельзя объяснить такой ряд процессов, как образование разнообразных нефтей; но мы имеем здесь группу бактерий, которые из жира могут образовать одну из групп соединений, входящих в нефть. Заметим здесь, что и ранее, говоря о возможном участии бактерий, восстанавливающих сульфаты, в процессе образования нефти мы указывали на то, что мы не склонны считать эту группу бактерий единственным агентом данного процесса.

Я должен прибавить, что вполне возможно, что некоторые актиномицеты и микобактерии в состоянии дать при разложении жира углеводороды, так как среди этих групп имеются виды или штаммы бактерий, которые разлагают жир и углеводороды. Но разложение жира и углеводородов в данном случае происходило в аэробных условиях [3].

Здесь уместно указать, что в работе об анаэробном разложении жира (Селибер и Кацнельсон [7]) приведены многочисленные данные по анализу остаточного жира культур с минеральным раствором и высоким слоем подсолнечного масла, зараженных различными образцами почвы; там имеется много случаев с значительно пониженным числом омыления (121,8, 116,0, 141,9, 112,4, 119,3, 122,0, 129,0, 131,0, 125,0) [1]. Иодное число в ряде случаев держится на уровне, близком к иодному числу свежего масла. Внимательный анализ цифр, приведенных в этой работе, и описание внешнего вида масла, подвергшегося воздействию микроорганизмов, говорят в пользу того, что мы имеем здесь дело с явлениями, заслуживающими более детального исследования.

Выделением чистых культур из имевшихся у нас материалов занималась Г. М. Кублановская [4]. Есть основание предполагать, что результаты углубленных исследований в данном направлении будут содействовать и выяснению вопроса об образовании нефти.

Следует указать, что если биологическое образование углеводородов не должно быть всегда необходимо связано с наличием жиров, то на связь между жирами и углеводородом (в смысле возможности одновременного образования или перехода одних в другие) указывает тот факт, что печеночные жиры морских животных содержат в большом количестве углеводороды и что в небольших количествах углеводороды находятся в растительных жирах и восках; ненасыщенный углерод с 6 свободными связями ($C_{30}H_{50}$) находится в жире, образуемом пивными дрожжами.

Приведенные выше данные и теоретические соображения говорят в пользу того, что в водах, сопровождающих нефть, и в почве имеются микроорганизмы, обладающие способностью разлагать жир, образуя при этом неомыляемые вещества, в том числе и углеводороды. Не приходится сомневаться в том, что более глубокое микробиологическое и биохимическое изучение процесса разложения жира в условиях строгого анаэробиоза и при затрудненном доступе воздуха в культурах при засеве материалом, взятым из нефтеносных земель, нефтяных вод, а также из почвы и сточных вод, будет способствовать выяснению вопроса об образовании углеводородов из жиров и, таким образом, будет служить и для освещения вопроса об образовании нефти. Прибавлю здесь, что в сообщении, опубликованном мною в 1928 г. [11], указывалось на интерес, который представляет собой изучение продуктов раз-

[1] Следует указать, что некоторое понижение числа в тех условиях, в которых мы производили наши опыты, может происходить, повидимому, и без помощи микроорганизмов, так как мы получали также контроли с пониженными числами омыления.

ложения жира и других органических веществ в культурах при их засеве образцами нефтяных вод. В своей монографии я указывал на необходимость изучения действия на жир микробов, разлагающих жир и находящихся в нефтеносных землях.

Ввиду того, что подвергающиеся в природных условиях разложению скопления животных и растительных остатков могут содержать неомыляемые вещества и между ними и углеводороды, то в образованные скопления углеводородов и других неомыляемых веществ в качестве составных частей могут входить уже ранее образованные вещества. В этом случае в качестве обогатителей этими веществами могут играть роль и неспецифические микробы; роль последних заключается в данном случае в выделении уже образованных углеводородов и других неомыляемых веществ путем разрушения других составных частей органических остатков.

Постановка экспериментальных исследований в указанных выше направлениях имеет важное значение не только для выяснения вопроса о механизме процесса образования нефти в прежние геологические эпохи; результаты таких исследований будут представлять интерес и потому, что образование нефти и близких к нефти органических соединений может иметь место и в настоящее время ввиду наличия в природе как материалов, из которых могут образоваться эти вещества, так и, следует думать, агентов живой природы, обладающих способностью их образовать.

Укажем, что соображения, приведенные в наших прежних сообщениях и высказываемые в этой работе, сходятся с предположениями Архангельского [1] и Таусона.

Выводы

1. В опубликованных автором (совместно с Кацнельсон и Седых) исследованиях о разложении жира при восстановлении сульфатов микроорганизмами в ряде случаев было получено понижение числа омыления. Это может свидетельствовать об образовании неомыляемых веществ, в том числе и углеводородов. В этих данных автор видит возможное подтверждение высказанного им предположения об участии бактерий, восстанавливающих сульфаты, в образовании нефти из жира. Это предположение подкрепляется также некоторыми теоретическими соображениями.

2. В появившемся сообщении Янковского и Цобель об образовании углеводородов из жирных кислот бактериями, восстанавливающими сульфаты, автор видит прямое экспериментальное подтверждение своего предположения с тем добавлением, что образование углеводородов может явиться результатом не только разложения жирных кислот, но и синтеза продуктов распада этих кислот.

3. В связи с выяснением вопроса об образовании неомыляемых веществ, в том числе и углеводородов из жира, следует обратить большее внимание на анаэробное разложение жира микроорганизмами почвы, нефтеносных земель, нефтяных вод и других материалов. Следует думать, что источником для образования нефти могут наряду с жиром служить и другие вещества.

Лаборатория микробиологии
Естественно-научного института
им. П. Ф. Лесгафта
Ленинград

Получено 16. IV. 1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Архангельский А. А. Условия образования нефти на Северном Кавказе, 1927. Цитировано по В. О. Таусону.
2. Блюмер. Нефтяные месторождения и основы геологии нефти. Москва — Ленинград, 1929.
3. Красильников Н. А. Лучистые грибы и родственные им организмы. Москва — Ленинград. Изд. Акад. Наук СССР, 1938.
4. Кублановская Г. Разложение подсолнечного масла микроорганизмами при затрудненном доступе воздуха. Микробиология, т. VIII, стр. 706, 1939.
5. Селибер Г. Л. Образование и разложение жиров микроорганизмами. Монографии Научного института им. Лесгафта, Ленинград.
6. Селибер Г. Л., Кацнельсон и Седых. Разложение жира при восстановлении сульфатов микроорганизмами. Сообщение I. Архив биолог. наук, т. 31, стр. 25, 1931. Сообщение II. Известия Научного ин-та им. Лесгафта, т. XX, вып. 3, стр. 3—22, 1937.
7. Селибер Г. Л. и Кацнельсон. Анаэробное разложение жира микроорганизмами. Там же, стр. 153—164.
8. Таусон В. О. О восстановлении сульфатов бактериями в присутствии углеводородов. Микробиология. т. 1, вып. 3, 1932.
9. Baars. Over Sulfatreductie door Bacterien. Delft. 1930.
10. Jankowski and Zo Bell. Hydrocarbon Production by Sulfate-Reducing Bacteria. J. Bact., v. 47, No. 5, p. 447, 1944.
11. Seliber. La réduction des sulfates par des microorganismes en présence des graisses. C. R. Soc. Biol., 99, p. 544, 1928.

CONCERNING THE PRODUCTION OF HYDROCARBONS FROM FATS BY MICROORGANISMS

G. L. Seliber

Summary

1. In the earlier studies of the author (in collaboration with Katznelson and Sedykh) on the decomposition of fat in the course of sulphate reduction by microorganisms lower values of the saponification coefficient have been obtained by them on many occasions. This can be an indication of the formation of unsaponifiable substances and of hydrocarbons among these. The author sees in these results a possible confirmation of the hypothesis advanced by him concerning the participation of sulphate reducing bacteria in the formation of mineral oil from fat. This hypothesis is also corroborated by certain theoretical considerations.

2. In the recently published communication of Jankowski and Zo Bell on the production of hydrocarbons from fatty acids by sulphate reducing bacteria the author sees a direct experimental confirmation of his hypothesis with the only difference that in addition it shows the possibility of the formation of hydrocarbons as the result of not only the decomposition of fatty acids but of a synthesis of the products of decomposition of these acids.

3. In connection with the elucidation of the question of the formation of unsaponifiable substances and of hydrocarbons among these from fat greater attention should be paid to the anaerobic decomposition of fat by the microorganisms of soil, of oil-bearing soils, of oil-water, etc. One should think that besides fat other substances also may serve as sources for the formation of oil.

Labotalory of Microbiology
of the Lesgaft Scientific Institule
Leningrad

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПРЕСНОВОДНЫХ ИЛОВЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ

Л. Д. Штурм и *З. А. Канунникова*

Изучение распространения микроорганизмов в иловых отложениях, богатых органическим веществом,— в сапропелях — представляет большой теоретический интерес.

Накопление мощных слоев сапропеля в современных бассейнах и превращение органического вещества в них дают нам представление о генезисе материнской породы горючих ископаемых.

Микроорганизмам принадлежит исключительно важная роль в превращении органических веществ этих отложений.

Поэтому представлялось чрезвычайно интересным выяснить количество и распространение возбудителей различных микробиологических процессов по разрезу сапропелевых отложений. Особенно ценными объектами для намеченной цели являлись озера Вышневолоцкого района Калининской области, расположенные вблизи Опытной сапропелевой станции Академии Наук СССР в Залучье. Эти озера послужили предметом разносторонних многолетних исследований, и в настоящее время имеется ряд работ, характеризующих химический состав воды озер, планктон и водную растительность, стратиграфию и химический состав сапропелевых отложений и пр.

Это дает основание не останавливаться на описании озер.

Микробиологические исследования касались главным образом качественного состава микроорганизмов поверхностных и глубоких слоев сапропеля; исследовалась также микрофлора озер по методу пластинок обрастания и количество микроорганизмов прямым методом [1, 3].

Кроме того изучалось превращение жира, парафина и пальмитиновой кислоты под влиянием микроорганизмов сапропелевых отложений с различных глубин [4].

Исследования показали, что общее количество микроорганизмов в поверхностных слоях сапропелей, определяемых прямым методом, достигает высокой цифры — 1—2 миллиардов. В этих слоях встречаются возбудители процессов, вызывающих превращение разнообразных органических веществ.

В глубоких горизонтах возбудители многих процессов не были обнаружены. Это дает основание предположить постепенное затухание микробиологических процессов с глубиной, однако качественные исследования не могли дать представление о количественной стороне явления. Приводимая ниже работа и имеет целью восполнить этот пробел. Исследовались сапропелевые отложения озера Коломно, Шитово и Пиявочного [1].

Методика взятия образцов из поверхностных и глубоких слоев сапропеля подробно описана раньше [2].

Количественный учет гетеротрофных бактерий производился методом разливки на МПА. Анаэробы культивировались в колбах Сойка,

[1] Работа проводилась на Опытной сапропеловой станции Института горючих ископаемых в Залучье летом в 1937 и 1938 гг. Пробы ила брались из центральной части озер.

заполненных агаром. Количество микроорганизмов, вызывающих разложение различных органических веществ, определялось методом разбавления.

Употреблялись следующие среды: МПА, среда Эшби для азотобактера, среда Омелянского и Гетчинсона для бактерий, разлагающих клетчатку, пептонная вода для аммонифицирующих бактерий, среда Гильтая для денитрифицирующих бактерий [1], среда Зенгена для бактерий, разлагающих мочевину, среда Тауш для бактерий, разлагающих жиры, среда Виноградского для Clostr. pasteurianum, кремневые пластинки по Виноградскому для нитрифицирующих бактерий (первая фаза), МПБ с 2% глюкозы для бактерий маслянокислого брожения, МПБ для бактерий, разлагающих белковые вещества с выделением газообразных продуктов.

Культивирование производилось при температуре 25—30°. Культуры на МПА в чашках Петри выдерживались 15 дней, на других средах — месяц. Посевы на разложение жира и клетчатки, в случае отрицательных результатов, контролировались два-три месяца. Если при посеве 1 г и более развития бактерий не наблюдалось, то в соответствующей графе таблицы пишется «нет». Знак $<$ указывает на то, что заражение из того или другого разведения не дало роста бактерий, причем посевы из более низких разведений не производились. В таком случае высчитывалось содержание бактерий в илу, на основании предположения, что в одном из сосудов, зараженных из наиболее низких разведений, появился рост. Так как развития в действительности не было, то количество микроорганизмов могло быть только ниже указанного числа. Из каждого разведения делалось три параллельных посева. Полученные результаты приведены в табл. 1, 2 и 3.

Таблица 1

Количество бактерий в 1 г сырого ила. Озеро Пиявочное

Глубина образца от поверхностного ила в м.	% влаги	Гетеротрофные		Аммонифицирующие	Сбраживающие мочевину	Сбраживающие белок	Денитрифицирующие	Нитрифицирующие	Азотобактер	Clostr. pasteurianum	Бактерии маслянокислого брожения	Разлагающие клетч.		Разлагающие жир
		МПА аэробн.	МПА анаэробн.									аэробн.	анаэробн.	
Поверхн. слой	99,40	400 000	9 639 000	200 000	4	40	нет	4	2	200	200	<2	200	200
0,4—0,6	96,29	409 000	82 000	370	37	3 000	3	нет	нет	37	300	нет	20	—
1,0—1,3	94,81	1 129 000	59 000	550	нет	3 000	нет	»	»	5	3 000	»	3	30
2,7—3,0	94,68	74 000	10 000	300	»	39	»	»	»	3	39	»	4	—
6,0—6,3	94,03	62 000	112 000	37	37	нет	»	»	»	3	нет	»	нет	—

Сопоставляя результаты исследований по трем озерам, можно сказать следующее. Большое количество гетеротрофных бактерий на всех горизонтах ила Пиявочного дает основание предполагать, что они могут проявлять свою жизнедеятельность по всему разрезу отложений.

[1] Учитывались только денитрификаторы, восстанавливающие нитраты с образованием газообразных продуктов.

Резкое падение количества аммонифицирующих бактерий с глубины 0,4—0,6 м указывает на затухание процесса аммонификации в глубоких горизонтах.

Таблица 2

Количество бактерий в 1 г сырого ила. Озеро Шитово

Глубина образца от поверхностного ила в м	% влаги	Гетеротрофные		Аммонифицирующие	Сбраживающие мочевину	Денитрифицирующие	Нитрифицирующие	Азотобактер	Clostr. pasteurianum	Бактерии маслянокислого брожения	Разлагающие клетчатку		Сбраживающие белок	Разлагающие жир
		МПА аэробн.	МПА анаэробн.								аэробн.	анаэробн.		
Поверхн. слой	97,82	15 000	88 000	360	нет	нет	нет	нет	200	200	2	20	60	200
0,4—0,6	86,21	88 000	237 000	300	»	»	»	»	80	80	нет	80	60	300
1—1,3	85,77	50 000	—	40	»	»	»	»	нет	4	»	80	30	40
3,2—3,5	85,09	19 000	—	20	»	»	»	»	»	нет	»	нет	нет	300

Таблица 3

Количество бактерий в 1 г сырого ила. Озеро Коломно

Глубина образца от поверхностного ила в м	% влаги	Гетеротрофные МПА аэробн.	Аммонифицирующие	Бактерии маслянокислого брожения	Денитрифицирующие	Clostr. pasteurianum	Разлагающие клетчатку	
							аэробн.	анаэробн.
Июль 1937 г.								
Поверхн. слой	96,52	39 000	94 000	67 000	500	500	50	20
0,4—0,6	94,73	800	200	200	1	70	< 1	27
1 —1,2	93,13	8	16	2	< 1	1	< 1	< 1
3 —3,2	92,65	100	< 1	2	< 1	< 1	< 1	< 1
6 —6,2	91,39	3	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Сентябрь 1937 г.								
Поверхн. слой	—	1 000 000	15 000	51 000	400	400	100	20
1—1,2	—	2 000	100	200	< 1	< 1	< 1	< 1

Процесс маслянокислого брожения и разложения белковых веществ с выделением газообразных продуктов происходит, повидимому, наиболее интенсивно в средних слоях (0,4—3 м), если принять во внимание, что количество бактерий, вызывающих эти процессы, достигает здесь максимального значения.

Не исключается возможность, что процесс анаэробного разложения клетчатки простирается на значительную глубину, так как возбудители его встречаются до глубины 3 м, хотя и в небольшом количестве. Процесс нитрификации и азотфиксации ограничивается, повидимому, поверхностным горизонтом — в более глубоких горизонтах нитрифицирующие бактерии и азотобактер не были найдены. Количество бактерий

аэробного разложения клетчатки в поверхностном слое сапропеля точно установить не удалось.

Иловые отложения озера Шитово по количественному и качественному составу в общем беднее микроорганизмами, чем отложения озера Пиявочного.

Аэробные гетеротрофные бактерии встречаются в отложениях в значительном количестве по всему разрезу; о них можно сделать то же предположение, как и в отношении этой группы в отложениях озера Пиявочного.

Процесс разложения жировых веществ и процесс аммонификации происходят, повидимому, по всей толще отложений, судя по содержанию бактерий. Количество бактерий, разлагающих жир, мало изменяется на разных глубинах, кроме горизонта 1 м, что может указывать на неослабевающую интенсивность процесса. Процесс аммонификации ослабевает, повидимому, с глубины 1 м, так как количество аммонификаторов на этом горизонте падает.

Мало изменяется количество бактерий анаэробного разложения клетчатки и разложения белковых веществ. Это говорит о том, что интенсивность процессов, вызываемых этими микроорганизмами, остается приблизительно на одном уровне до глубины 1,3 м. Процесс маслянокислого брожения затухает, повидимому, на глубине 0,4—0,6 м, так как количество бактерий на этом горизонте падает.

Иловые отложения озера Коломно резко отличаются от озера Пиявочного и Шитово по распределению микроорганизмов. Только поверхностный слой этих отложений характеризуется высоким содержанием бактерий различных физиологических групп. Количество их резко падает уже на глубине 0,4—0,6 м. Можно думать поэтому, что глубокие слои сапропеля озера являются мало активными или совсем неактивными в микробиологическом отношении.

Выводы

1. Распределение и количество микроорганизмов в иловых отложениях озера Пиявочного указывает на то, что микробиологические процессы, в частности превращение белковых веществ, могут осуществляться в них по всему разрезу. Превращение углеводов затухает, повидимому, в придонном слое (на глубине 6 м).

2. То же самое заключение может быть высказано в отношении ила озера Шитово. Кроме того здесь можно допустить превращение жировых веществ по всей толще отложений.

3. В озере Коломно микробиологически активными могут считаться только верхние слои ила. Резкое падение количества микроорганизмов, начиная с глубины 0,4—0,6 м, указывает на затухание микробиологических процессов уже с незначительной глубины.

Институт горючих ископаемых
Академии Наук СССР
Москва

Получено 18.V.1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Хартулари Е. М. Бактериологические исследования в связи с вопросом разложения ила и образованием газа. 1-я Сессия Лимн. ст. в Косине, стр. 4, 1937.
2. Штурм Л. Д. и Симакова Т. Л. Материалы по бактериологическому исследованию сапропелевых отложений. Изв. Сапропелевого комитета, вып. 5, стр. 81—116, 1928.
3. Штурм Л. Д. Исследование микрофлоры озер по методу пластинок обрастания. Тр. Лаб. генезиса сапропеля, вып. 1, стр. 149—165, 1939.
4. Штурм Л. Д. и Федоровская Н. П. Изучение превращения жировых веществ в связи с генезисом иловых отложений. Тр. Лаб. генезиса сапропеля, вып. 2, стр. 95—114, 1941.

THE DISTRIBUTION OF MICROORGANISMS IN FRESH-WATER MUD DEPOSITS

L. D. Sturm and *Z. A. Kanunnikova*

Summary

1. The distribution and the numbers of microorganisms in the mud depositions of lake Piavochnoe show that microbiological processes, transformation of proteins in particular can take place in them throughout their depth. The transformation of carbohydrates slackens downwards and seems to be extinguished in the bottom layer (at the depth of 6 m).

2. The same conclusion may be drawn from the observations on the mud of lake Shitovo. In respect of this mud, moreover, transformation of fatty substances may be assumed to take place throughout the entire thickness of its deposits.

3. In lake Kolomno only the upper layers of mud may be regarded as microbiologically active. The abrupt decrease of the numbers of microorganisms beginning at 0.4—0.6 m from the surface of the mud layer points to the extinction of microbiological processes at an insignificant depth already.

Institute of Mineral Fuels of the
Academy of Sciences of the USSR
Moscow

ОПЫТ ДВАДЦАТИТРЕХЛЕТНЕГО ПОДДЕРЖАНИЯ СВЕЧЕНИЯ БАКТЕРИЙ

А. А. Егорова и *Л. В. Ярмолюк*

Вопрос о поддержании культур светящихся бактерий в состоянии непрерывного свечения представляет значительные затруднения. Было предложено много способов культивирования светящихся бактерий. В частности Schaede [3] описывает способ, при котором культуры бактерий светились без пересева в течение годичного срока. Вообще ему удалось держать в лабораторных условиях культуру Bact. phosphoriescens в течение 7 лет без потери свечения. Наша культура светящихся бактерий Bact. Issatchenkoi n. sp., выделенная из воды Черного моря (Егоровой, 1922 г.), оставалась в лабораторных условиях с 1922 г. без утраты способности светиться.

Таким образом целью этого сообщения является, с одной стороны, дать рецептуру питательной среды, на которой поддерживался штамм с 1922 г., а с другой стороны,— описать изменения, какие произошли в культуре Bact. Issatchenkoi в течение 23 лет [1].

Поскольку светящиеся бактерии весьма требовательны к источникам азота, то нами предпочтен пептон. Поэтому с начала работы было изготовлено достаточное количество пептона Витте, который имеется и по настоящее время; и только он употреблялся для изготовления питательной среды.

Опыты, которые были проведены в 1922 г. при подборе питательной среды для светящихся бактерий, показали также, что рост идет лучше всего на рыбном бульоне с пептоном. С этой целью достаточное количество рыбы (судак), попадавшейся во время траления в Азовском море, было в 1922 г. очищено от внутренностей, кожи и костей, размельчено и высушено на солнце на борту парохода. На такой сушеной рыбе и по сие время изготовляется рыбный бульон для культивирования Bact. Issatchenkoi n. sp. Рецептура питательной среды следующая: рыбная вытяжка — 1 000 см³, NaCl — 30 г, пептон Витте — 10 г, аспарагин — 5 г, фосфорно-двукалиевая соль — 1 г, сернокислый магний — 0,5 г, агар-агар — 20 г.

Пересевы на свежую питательную среду следует производить, примерно, 1 раз в месяц. В течение 23 лет культивирования в лабораторных условиях были случаи, когда пересевы производились через более длительные промежутки времени, когда исходный посев уже терял способность светиться.

В этих условиях обычный пересев штрихом на косой агар, как общее правило, давал отрицательный результат. Свечение не наблюдалось. Чтобы вызвать свечение вновь, мы касались иглой до исходной культуры и делали точечный посев на косой агар в пробирки или в чашки Петри.

При этом лишь некоторые из большого числа развившихся колоний оказывались светящимися. Дальнейшие пересевы из этих светящихся колоний давали нормальную светящуюся культуру.

Культура, которая была выделена в 1922 г., характеризовалась следующими морфологическими и культурными признаками.

Форма. Палочка с закругленными концами, очень подвижная:

встречаются палочки, соединенные в виде цепочки. Спор не образует. Длина 1—2 μ, ширина 0,5 μ. Хорошо красится анилиновыми водно-спиртовыми красками. По Граму не окрашивается.

Колонии. Поверхностные, округлые, с ровным резко очерченным краем, зернистого строения, желтоватого цвета. Край колонии чуть светлее. Глубинные колонии ладьеобразные.

Рост на питательных средах. На рыбном бульоне с 3% NaCl на 4-й день образуется равномерная легкая муть и тонкая пленка на поверхности. В старых культурах пленки нет, вся пленка опадает на дно пробирки в виде хлопьевидного осадка, на стенках пробирки остается только налет колечком. Сероводород и аммиак образуются. Реакция на индол отрицательная. Желатину не разжижает. Рост слабый. На молоке развития нет. На картофеле развития не заметно. На картофеле, обработанном 15 мин. в 5% соде, развитие очень слабое. На картофеле, обработанном содой и смоченном 2% раствором NaCl, на глаз заметен хороший рост с коричневым оттенком, но почти все клетки инволюционные.

Отношение к температуре. На агаре при 16—19° развитие нормальное, свечение хорошее. При 26—27° развитие хорошее в виде беловато-глянцевого налета, свечение очень слабое. При 2—6° развития не было заметно, но культуры, перенесенные через 20 дней в комнатную температуру, обнаружили хорошее развитие. Свечения, однако, не было заметно. Температуры ниже нуля не оказывали влияния на уже светящуюся культуру на бульоне. Свечение замерзшей культуры продолжалось, но слабо. Оттаявшая культура давала хорошее свечение, здесь замораживание как бы его стимулировало.

После 23 лет культивирования в лабораторных условиях вновь были проверены характерные особенности культуры Bact. Issatchenkoi.

В результате исследований выяснилось, что культура почти не претерпела никаких изменений. Культура обладает нормальной способностью сейчас светиться не менее ярко, чем светилась в момент выделения ее из воды.

Несколько изменился размер клеток, величина их $0{,}8 \times 1{,}4$ μ, и некоторые клетки достигают длины до 5 μ. Утратилась способность к образованию аммиака и сероводорода, а также клетки стали менее подвижными. Внешний вид колоний на питательном агаре стал более гомогенным. Колонии достигают меньшего размера, старые культуры приобретают более желтый оттенок.

Выводы

1. Испытанная нами питательная среда дает возможность культивировать светящиеся бактерии в течение десятков лет в лабораторных условиях без утраты ими способности светиться.

2. Светящаяся бактерия Bact. Issatchenkoi n. sp. при культивировании в течение 23 лет в лабораторных условиях почти не изменила своих культуральных и морфологических признаков.

Культуры многократно высылались в различные русские и заграничные научно-исследовательские учреждения и послужили материалом для исследования их биологических свойств, описанных затем иностранными учеными [2].

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 10.V. 1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Egorowa A. A. Leuchtbakterien im Schwarzen und im Asowschen Meere. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 79, S. 168, 1929.
2. Pfeiffer H. u. Stammer H. Pathogenes Leuchten bei Insekten. Z. Morph. u. Oekol. der Tiere, 20, 1930.
3. Schaede R. Eine Methode zur Dauerkultur von Leuchtbakterien. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 100, S. 481, 1939.

PRESERVATION OF THE LIGHT PRODUCING ABILITY OF A BACTERIUM FOR 23 YEARS UNDER LABORATORY CONDITIONS

A. A. Egorova and *L. V. Yarmoliuk*

Summary

1. The nutrient medium used by the authors permits to cultivate luminous bacteria for dozens of years under laboratory conditions without their losing the ability to luminous.

2. The luminous bacterium Bact. Issatchenkoi has preserved almost intact its cultural and morphologic characters after 23 years of cultivation under laboratory conditions.

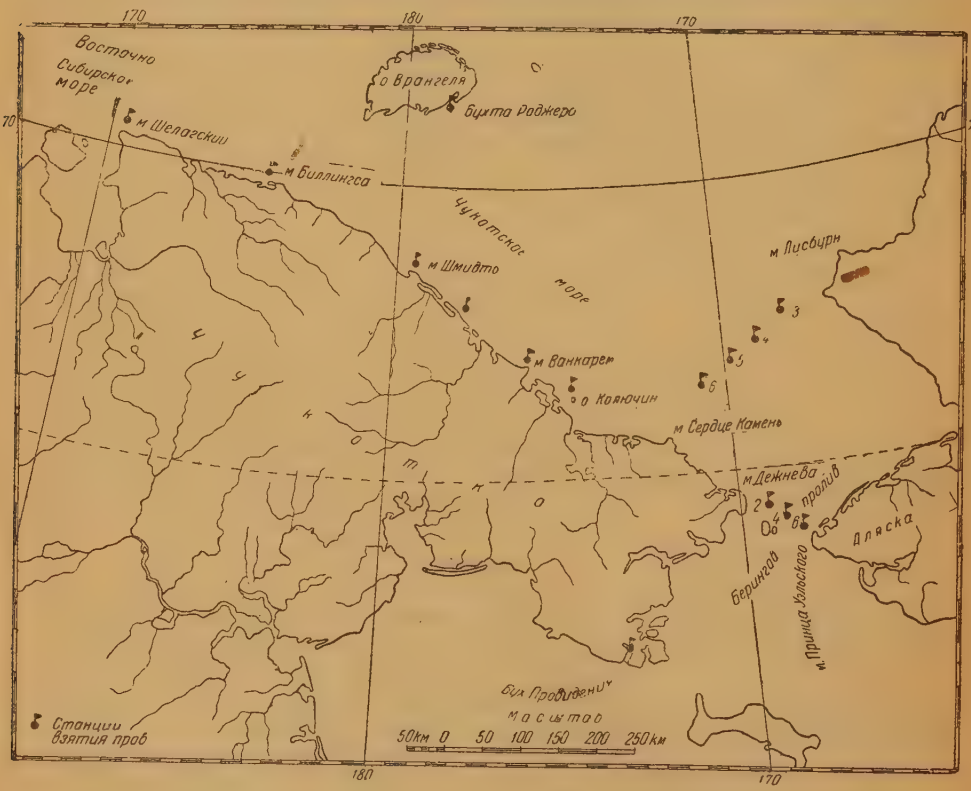
The cultures have been on numerous occasions sent to various russian and foreign scientific institutions and have been the subject of studies on their biological characters, the reports of which were subsequently publiched by investigators abroad.

Institute of Microbiology of the
Academy of Sciences of the USSR
Moscow

МИКРООРГАНИЗМЫ ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ СЕВЕРНОГО ЛЕДОВИТОГО ОКЕАНА

А. Е. Крисс

Первоисточником наших сведений о микробном населении Северного Ледовитого океана являются исследования Исаченко [7]. Обстоятельно описанные им наблюдения над составом микрофлоры Баренцова моря не только опровергли представления о крайней бедности микроорганизмами холодных вод Полярного бассейна, основанные на данных Levin [12], но и показали возможность существования в этих водах микробных форм, с жизнедеятельностью которых связаны про-



цессы круговорота азота и серы. В собранной Исаченко коллекции микроорганизмов оказались представители основных систематических групп: кокки, неспороносные и спороносные палочки, спириллы, актиномицеты, дрожжи.

Более поздними работами Исаченко и Егоровой [6, 8] район микробиологического изучения Северного Ледовитого океана был расширен за счет Карского моря и частично моря Лаптевых. Проведенные анализы доказали широкое распространение в обследованных морях ряда физиологических групп микроорганизмов, в том числе и участников

превращения углерода. Обитателями арктических вод оказались также железобактерии, найденные Буткевичем [1] в Баренцовом, а Исаченко [8] — в Карском морях.

Насколько значительно количество бактерий в воде и грунтах Баренцова и Карского морей, свидетельствуют подсчеты Буткевича [2, 3] и Исаченко [8]. Определенные ими методом прямого счета числа особей составляют в пересчете на 1 мл или 1 г сотни миллионов — обстоятельство, позволившее Буткевичу высказать мнение, что и в Северном Ледовитом океане микроорганизмы играют роль в круговороте основных биоорганогенных элементов не только как активные деятели, но и в качестве звена пищевой цепи.

Значение проведенных исследований велико, однако для полноты освещения картины распространения микроорганизмов в Северном Ледовитом океане необходимо было обследовать в микробиологическом отношении восточную часть его, остававшуюся до последнего времени «белым пятном». Эту задачу мне довелось в какой-то мере выполнить, благодаря участию в комплексной экспедиции Академии Наук СССР на остров Врангеля летом 1938 г.

На карте указаны станции, где были взяты пробы воды и образцы грунтов. По расположению станций можно судить, что район обследования простирался от берегов Аляски вдоль побережья Чукотки до мыса Шелагского в Восточно-Сибирском море. Основное внимание было уделено видовому составу встречающейся в этом районе микрофлоры и наличию некоторых физиологических групп микроорганизмов.

Из-за ограниченности места для изложения всего фактического материала настоящая статья является лишь кратким очерком результатов выполненных исследований.

Методика

Пробы воды, полученные микробиологическим батометром Исаченко, и образцы грунта, добытые трубкой Экмана, тотчас же переносились в специально оборудованную на судне лабораторию, где испытуемым материалом в возрастающих разведениях засевались следующие среды: водой — мясопептонный агар и мясопептонный агар с 3% концентрацией морской соли, илом — мясопептонный агар и иловый агар, приготовленный из иловой вытяжки (100 г ила + 100 мл воды) с добавлением к ней K_2HPO_4 — 0, 05 г, KNO_3 — 0,01 г и маннита — 1 г. Кроме этих сред посев производился на кремнекислый гель с раствором Эшби для азотобактера, на среду Гильтая для денитрифицирующих, среду Виноградского для нитрифицирующих, среду Гетчинсона для аэробных, среду Вильджона и Фреда для анаэробных целлюлозных бактерий и среду Ван-Дельдена для десульфурирующих бактерий. Посевы выдерживались при t 26—28°.

После определения общего числа выросших на чашках колоний микроорганизмов различающиеся формы отвивались в пробирки с косым агаром. Параллельно производились их подсчет, микроскопическое изучение препаратов и описание характерных особенностей отвиваемых колоний. Пробирки с культурами запаивались и в таком виде хранились до окончания работ экспедиции. В Москве для детального изучения морфологических, культуральных признаков и физиологических свойств выделенных штаммов[1] были применены следующие субстраты: мясопептонный агар, мясопептонный бульон, мясопептонная желатина, картофель, морковь, молоко, молоко с лакмусом, среда Чапека, среда Гильтая, крахмальный агар, пептонодрожжевая вода с лакмусом и источниками углерода в виде глюкозы, сахарозы, лактозы, арабинозы, ксилозы, маннита, дульцита и салицина. Наблюдения за развитием физиологических групп микроорганизмов производились как во время экспедиционной работы, так и после возвращения в Москву.

Основные результаты исследований

Несомненно, что микробные формы, легко приспосабливающиеся к культивированию на искусственных субстратах, не в полной мере отражают по количеству и видовому составу богатство микрофлоры мор-

[1] Пользуюсь случаем выразить свою глубокую благодарность А. И. Кореняко и Е. А. Рукиной, принимавшим участие в обработке экспедиционного материала.

Таблица 1

Данные о количественном и групповом составе микрофлоры Чукотского и Восточно-Сибирского морей

Местоположение станции	Объект исследования	Температура	Название среды	Общее число колоний в пересчете на 1 мл или 1 г	Из них колоний				
					неспоро-носных палочек	спороносных палочек	кокковых форм	актино-мицетов	грибов
Бухта Провидения (портовая зона)	Придонная вода	+3,8	МПА	700 000	300 000	200 000	—	150 000	50 000
В 7 милях севернее мыса Биллингса	Придонная вода	+1,2	МПА	700	—	100	400	100	100
	Грунт		Солевой МПА	240	—	—	210	20	10
			МПА	6 000	1 000	1 000	2 000	1 000	1 000
			Иловый агар	300	—	—	100	100	100
В 6 милях севернее о. Колючин	Придонная вода	+0,2	МПА	120	—	—	70	40	10
			Солевой МПА	520	10	—	20	280	210
В 5 милях севернее косы 2 пилотов	Придонная вода	—1,1	МПА	100	—	—	—	100	—
			Солевой МПА	400	—	100	100	100	100
В 2 милях севернее мыса Шмидта	Придонная вода	+0,3	МПА	500	—	—	300	100	100
			Солевой МПА	900	—	100	—	600	200
В 3 милях севернее мыса Ванкарем	Придонная вода	+0,2	МПА	200	100	100	—	—	—
			Солевой МПА	800	—	—	100	600	100
В 6 милях севернее мыса Шелагского	Придонная вода	+0,6	МПА	3 710	—	—	3 700	—	10
	Грунт		Солевой МПА	3 030	—	—	3 000	—	30
			МПА	7 000	—	1 000	5 000	1 000	—
			Иловый агар	2 000	—	—	1 000	1 000	—

	Придонная вода	−0,11	МПА	400	—	—	—	300	100
			Солевой МПА	500	—	—	—	300	200
			Прямой счет	143 000					
В 7 милях южнее бухты Роджерса о. Врангеля			МПА	3 000	—	600	—	2 400	—
	Грунт		Иловый агар	1 000	—	—	—	1 000	—
			Прямой счет	7 800 000					
Разрез мыс Лисбурн — мыс Сердце-Камень									
	Придонная вода	+4,5	МПА	24 400	20 000	—	4 000	400	—
			Солевой МПА	38 600	30 000	—	8 000	600	—
3-я станция 68°18′N, 168°′11′W	Вода на глубине 25 м	+4,63	МПА	600 000	600 000	—	—	—	—
			Солевой МПА	700 000	700 000	—	—		—
4-я станция 68°03′N, 169°02′W	Придонная вода	+1,06	МПА	10 800	10 000	400	—	400	—
			Солевой МПА	11 600	10 000	1 400	—	200	—
	Придонная вода	+0,7	МПА	56 000	52 000	—	4 000	—	—
5-я станция 67°47′8N, 169°52′W			Солевой МПА	73 000	73 000	—	—	—	—
	Вода на глубине 25 м	+2,36	МПА	44 600	40 000	4 000	600	—	—
			Солевой МПА	120 000	100 000	—	10 000	10 000	—
6-я станция 67°32′2N, 170°44′W	Придонная вода	−0,7	МПА	10 400	10 000	—	400	—	—
			Солевой МПА	24 600	24 000	—	600	—	—
			Прямой счет	4 200 000					
Разрез мыс Дежнева — мыс Принца Уэльского									
		+0,63	МПА	240	—	20	120	60	40
2-я станция 66°02′N, 169°13′W	Грунт		Иловый агар	—	—	—	—	—	—
			Прямой счет	1 300 000					
4-я станция 65°51′2N, 168°46′W	Грунт	+1,24	МПА	44 000	40 000	4 000	—	—	—
			Иловый агар	23 000	20 000	—	—	3 000	—
6-я станция 65°44′6N, 168°16′W	Грунт	+4,9	МПА	26 000	23 000	—	3 000	—	—
			Иловый агар	17 000	16 000	—	—	1 000	—

ских водоемов. Об этом говорят не только известные факты расхождения данных прямого счета и счета колоний на плотных средах или, например, указания Waksman и Carey [13] на отсутствие в ряде случаев параллелизма между потреблением кислорода в морской воде и количеством бактерий, учитываемых методом посева. Некоторые бактериальные формы, как мне приходилось наблюдать, выраставшие в виде довольно крупных колоний при посевах воды и ила, несмотря на применение различных сред и температур, не выдерживали дальнейших пересевов и погибали. Такую же судьбу обычно разделяли точечные, прозрачные, как капельки росы, колонии, состоявшие из неспороносных палочек или кокков.

Поэтому приводимая сводная таблица позволяет составить лишь приближенное представление о количестве и составе микроорганизмов в обследованных участках океана.

Количественное распространение микроорганизмов

Вдоль побережья Чукотского моря число особей в 1 мл воды, если судить по количеству колоний, не превышало нескольких сотен. Более высокие цифры были получены севернее мыса Шелагского в Восточно-Сибирском море. По сравнению с придонной водой содержание микроорганизмов в поверхностных слоях грунта на тех же станциях примерно в 2—8 раз больше (на МПА).

Иная картина наблюдалась в открытом море на разрезе мыс Лисбурн — мыс Сердце-Камень и в Беринговом проливе. Здесь число колоний в пересчете на 1 мл или 1 г составляло несколько десятков, а на третьей станции — даже несколько сотен тысяч. Следуя взгляду Fischer [11], это явление можно рассматривать как результат сталкивающихся в данном районе течений — холодного у Чукотского полуострова и теплого, примыкающего к берегам Аляски. Температура воды заметно понижается с запада от Гринвича на восток и здесь нужно отметить в соответствии с данными Буткевича [2], что сами по себе температурные колебания в пределах нескольких градусов около нуля мало сказываются на количестве микроорганизмов.

Скопления последних в восточной части Чукотского моря, повидимому, обусловлены повышенным содержанием органических веществ в пограничной зоне течений. Характерно, что в портовой части бухты Провидения, загрязненной всякими отбросами, число микроорганизмов соответствует величинам, определенным на 3-й станции, расположенной примерно у середины разреза мыс Лисбурн — мыс Сердце-Камень, т. е. там, где вероятнее всего соприкасаются течения.

Цифры, полученные путем счета колоний, даже на станциях, где они составляют сотни тысяч, не выражают истинного числа микроорганизмов. Метод прямого счета открывает в 100, 1 000 раз большее количество микробных тел в воде и грунтах Чукотского моря (см. таблицу, вторая и шестая станции и станцию у о. Врангеля, где были проведены сравнительные исследования). Прибавление морской соли к МПА в ряде случаев способствовало выявлению несколько большего числа особей — факт, отмеченный еще Исаченко [8], тогда как иловый агар оказался менее подходящим, чем МПА, субстратом для количественного определения микроорганизмов.

Несоответствие между результатами прямого счета и численностью колоний на плотных средах, например на солевом агаре, объясняется не только наличием в воде и грунтах мертвых, нераспавшихся клеток или микроорганизмов, не приспособленных к культивированию в лабораторной обстановке. Необходимо также считаться с возможностью

развития отдельных колоний не из одиночных особей, а из множества клеток, связанных между собой обилием слизи. Такие зооглейные формы обнаружил Исаченко [8], в препаратах из ила, а мне пришлось сравнительно часто наблюдать их в колониях, выросших при засевах воды и грунта. Способность к слизеобразованию не являлась постоянным признаком у ряда видов. Она легко утрачивалась после нескольких пересевов и, повидимому, была вызвана действием низких температур, поскольку Чистяков [10] экспериментально показал, что некоторые, не образующие слизь формы начинают продуцировать ее при —2°.

Существенное значение для оценки причин расхождений между числом особей, попавших на поверхность плотной среды, и числом выросших колоний могут иметь и явления антагонизма. В условиях ограниченного пространства и относительно постоянного состава питательной среды антагонистическое влияние может достигнуть значительной силы, благодаря суммированному действию миллионов клеток развившейся популяции. При посеве 0,1 мл придонной воды, взятой со станции у мыса Шелагского, на поверхности агара выросли 1 колония гриба из рода Penicillium и 1 колония желтого микрококка, тогда как посев 0,1 мл разведения 1 : 10 той же пробы воды дал следующий результат: выросло 37 колоний, из них 24 желтого и 13 белого микрококков.

Приведенные факты подчеркивают недостаточность метода количественного учета на плотных средах, однако, с другой стороны, они лишают оснований мысль о том, что степенью несоответствия между данными прямого счета и данными счета колоний можно выразить количество микроорганизмов в морской воде и грунтах, не способных к развитию на искусственных питательных средах.

Состав микрофлоры

Буткевич [2, 4] относит к морским аборигенам подвижные бесспоровые палочки с заметно выраженным оптимумом развития при 3% концентрации соли. Среди этих форм многие хорошо развивались на синтетических средах с различными углеродсодержащими соединениями и нитратами, как источником азота.

Насколько правомерно столь ограничительное толкование термина «морские бактерии», если учесть солетолерантность микроорганизмов и значение ростовых веществ для размножения их на синтетических средах,— должны показать дальнейшие исследования. Судя по распространению в воде и грунтах Чукотского моря неподвижных бесспоровых палочек, спороносных бактерий, кокков, в число которых на таблице были отнесены микрококки, сарцины и микобактерии, а также актиномицетов и грибов, трудно предположить, что все эти формы, даже если большинство из них оказалось занесенным с суши, являются случайными, не приспособившимися к условиям существования в море, безучастными свидетелями происходящих в нем процессов.

Неспороносные палочки составляли преобладающую часть микробного ценоза в открытом море на разрезе мыс Лисбурн — мыс Сердце-Камень, в грунтах Берингова пролива и в воде бухты Провидения. На 3-й станции, на глубине 25 м, кроме неспороносных палочек другие формы не были обнаружены.

Среди выделенных штаммов оказались представители подвижных и неподвижных, окрашенных и бесцветных, флюоресцирующих, грамположительных и грамотрицательных видов. В физиологическом отношении различались: группа, биохимически весьма активная — образующая аммиак, сероводород, индол, разжижающая желатину, свертывающая молоко с последующей пептонизацией, восстанавливающая нитраты до нитритов, подкисляющая среды с углеводами и высокоатомными спир-

тами, инвертирующая сахарозу, гидролизирующая крахмал, и другая, противоположность первой, почти не проявлявшая ферментативной деятельности. Наибольшей по численности штаммов являлась промежуточная группа. У входящих в эту группу неспороносных палочек не проявлялось действие какого-либо одного или нескольких ферментов.

Спорообразующие бактерии были обнаружены во всех образцах илов, кроме 6-й станции в Беринговом проливе. В воде находки спороносов не так часты, но они попадались не только в придонных слоях, как, например, на 5-й станции Чукотского моря. Эта группа бактерий всегда составляла лишь малую часть микробного ценоза, уступая по числу колоний неспороносным палочкам, коккам, а в ряде случаев и актиномицетам.

Выделенные культуры различались величиной клеток и подвижностью. По типу колоний встречались гладкие, слизистые и складчатые, серовато-белого цвета формы. Некоторые из них на ломтиках картофеля образовали слаборозовый пигмент. Из характерных черт нужно отметить еще положительное отношение к окраске по Граму и способность почти всех штаммов, кроме одного, разжижать желатину. Денитрификаторов в этой группе обнаружено значительно больше, чем у неспороносных бактерий. В остальном к ней по биохимическим свойствам полностью приложима характеристика, приведенная выше.

Кокковые формы оказались ведущей микрофлорой на станциях, расположенных вдоль побережья Чукотского моря, конкурируя на отдельных станциях только с актиномицетами. Подавляющее большинство видов как в воде, так и в грунтах относилось к микрококкам и микобактериям, реже встречались сарцины. Чувствительность к морской соли оказалась неодинаковой: некоторые формы развивались преимущественно на МПА, другие, наоборот, на солевом агаре.

В препаратах наблюдались одиночно или парно расположенные кокки, тетрады, скопления или цепочки клеток и картины полиморфизма, типичные для микобактерий. Культуры многих видов имели розовую, оранжевую или желтую окраску. Все штаммы окрашивались положительно по Граму. В отношении физиологических свойств отмечались те же вариации, как у палочек. Особенностью выделенных кокковых форм оказалось отсутствие способности к восстановлению нитратов.

Актиномицеты встречались почти на всех станциях, тогда как грибы главным образом в береговой зоне. В придонном слое воды на станции у о. Врангеля актиномицеты и грибы являлись единственными представителями микрофлоры. Некоторые формы, повидимому, предпочитают солевой агар.

Колонии актиномицетов имели белую, серовато-белую, желтоватую и лишь в одном случае розовую окраску. Спороносные гифы были прямыми, искривленными, а чаще всего свернутыми в спирали с ходом вращения слева направо. Споры круглые или удлиненно-овальные. Все виды образовывали аммиак, сероводород, разжижали желатину, пептонизировали молоко. Различия наблюдались в отношении способности к инверсии сахарозы, гидролиза крахмала и редукции нитратов.

Из физиологических групп необходимо отметить почти повсеместное распространение в воде и грунтах у берегов Чукотки нитрифицирующих и денитрифицирующих бактерий. Они хорошо развивались как на средах с морской солью, так и без нее. Процессы нитрификации как правило заканчивались образованием азотистой кислоты, а среди денитрификаторов в немногих случаях попадались формы, способные к восстановлению и нитритов. На гелевых пластинках, пропитанных раствором Эшби и засеянных пробами воды или грунтов, часто приходилось наблюдать развитие колоний, похожих на колонии азото-

бактера, однако представлявших собой популяции неспороносных и спороносных палочек,— азотобактера во всех исследованных образцах я не встретил. Среды с клетчаткой редко оставались стерильными после засева воды или илов, особенно среда Вильджона и Фреда, где образование пузырьков газа и помутнение жидкости свидетельствовало о размножении, повидимому, маслянокислых бактерий. Но разрушение бумаги в аэробных и анаэробных условиях имело место лишь в единичных случаях, хотя значительно чаще на полосках фильтровальной бумаги наблюдалось возникновение окрашенных зон или появление актиномицетов и грибов. Широко распространенной группой микроорганизмов оказались десульфурирующие бактерии, найденные в илах и придонной воде.

Таким образом можно констатировать, что моря, составляющие восточную часть Северного Ледовитого океана, с температурами воды, близкими к 0°, являются местообитанием разнообразнейших форм микроорганизмов. Судя по числу их, они способны в этих условиях к размножению, правда медленному, но приводящему в конечном итоге к накоплению значительной биомассы. Большинство видов снабжено ферментативным аппаратом, обеспечивающим им активное участие в происходящих в море процессах круговорота элементов.

Поскольку параллельно с микробиологическим изучением океана мною проводились аналогичные исследования тундровых почв Чукотки, островов Колючин и Врангеля, удалось убедиться в том, что ряд сходных или весьма близких видов, обнаруженных в морской воде, встречается не только на значительном расстоянии друг от друга в море, но и на суше.

Специфичность морской среды не является препятствием к развитию в ней некоторых, а возможно и многих наземных форм микробов, подвижных в отношении приспособительных возможностей. Вполне вероятно, что процесс приспособления в результате отбора может привести у ряда видов к появлению рас с узкими пределами чувствительности к ионному составу и осмотическому давлению среды (Дианова и Ворошилова [5]), однако наличие этих крайне специализированных форм отнюдь не дает оснований отрицать сосуществование в море и энергичную деятельность значительного числа так называемых «пресноводных» микроорганизмов, отличием которых является способность к развитию на средах без морской соли.

Вопросы экологии микроорганизмов приобретают все большее значение, и здесь нужно в соответствии с предложениями Исаченко [9] вновь подчеркнуть необходимость углубленного изучения в сравнительном аспекте видового состава микрофлоры морских водоемов на разных глубинах и в различных географических зонах для развития представлений об экотипах микробов. Это направление, естественно, не исчерпывает задач морской микробиологии, однако оно является существенным звеном в познании процессов, происходящих в мировом океане.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 21.V.1945

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. Образование морских железо-марганцевых отложений и участвующие в нем микроорганизмы. Тр. Морск. научн. ин-та, 3, вып. 3, 1928.
2. Буткевич В. Методика бактериологического исследования и некоторые данные по распределению бактерий в воде и грунтах Баренцова моря. Тр. Океаногр. ин-та, 2, вып. 2, 1932.

3. Буткевич В. О бактериальном населении морских вод в высокоширотных арктических областях. ДАН СССР, XIX, 651, 1938.
4. Буткевич В. и Богданова И. Некоторые особенности бактериального населения арктических морей. Микробиология, т. VIII, 1073, 1939.
5. Дианова В. и Ворошилова А. Солевой состав среды и специфичность морских бактерий. Микробиология. т. IV, 393, 1935.
6. Егорова А. Микробиологическое исследование воздуха, снега и льда Карского моря. Микробиология, т. IX, 888, 1940.
7. Исаченко Б. Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана. Тр. Мурм. Научно-промысл. экспед. 1906 года, Петроград, 1914.
8. Исаченко Б. Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря. Тр. Арктич. ин-та, 82, 7, 1937.
9. Исаченко Б. Микробиологические исследования морей СССР (1917—1937). Микробиология, т. VI, 964, 1937.
10. Чистяков Ф. Приспособление микроорганизмов к низким температурам. Доклад на научн. конф. Ин-та микробиологии АН СССР 4 мая 1945 г.
11. Fischer B. Die Bakterien des Meeres, 1894.
12. Levin Dr. Les microbes dans les régions arctiques. Ann. Inst. Past., 13, p. 558, 1889.
13. Waksman S. and Carey C. Decomposition of organic matter in sea water by bacteria. J. Bact., 29, p. 531, 545, 1935.

THE MICROORGANISMS OF THE EASTERN PART OF THE ARCTIC OCEAN

A. E. Kriss

Summary

Microbiologic investigations were made by the author in 1938 in the Chukostkoie and partly in the East Siberian Seas. Along the Chukotka coast the numbers of microorganisms estimated on the ground of colony counts, did not exceed several hundreds or thousands per 1 ml of water or 1 g of slime. Tens or even hundreds of thousands of microbes per 1 ml resp. 1 g were found in the belt between Alaska and Chukotka and in the bottom grounds of the Behring Strait, approximately in the places, where the water currents touch. These counts are not the highest, since by means of direct counting millions of microbe cells were found per 1 ml of water or per 1 g of slime.

The study of the morphologic, cultural characters and of the physiological properties of the isolated strains permitted to establish that numerous different species of microorganisms are encountered in the water and grounds of the Chukotskoie Sea. The group of non-sporing rods was prevalent in the open sea, while cocci, among which were micrococci, sarcinae and mycobacteria, constituted the prevailing microflora of the coastal zone. Spore-bearing rods were always scarce. Actinomycetes have been found at almost every station and fungi only in the neighbourhood of the coast.

Almost every sample of water or grounds, taken in the immediate vicinity of the coast contained nitrifying, dentrifying and desulphurizing bacteria. On rare occasions some aerobic and anaerobic cellulose microorganisms have been found. No Azotobacter was encountered.

The comparative abundance of the microflora in the Eastern part of the Arctic Ocean points to the existence of processes of metabolic circulation of substances taking place there at low temperatures.

Institute of Microbiology
of the Academy of Sciences of the USSR
Moscow

О БАКТЕРИЯХ В ЯПОНСКОМ МОРЕ. СУТОЧНЫЕ КОЛЕБАНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО И КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА БАКТЕРИЙ В ВОДЕ БУХТЫ ЗОЛОТОЙ РОГ (ВЛАДИВОСТОК)

Л. Н. Гурфейн

Бактерии и родственные им микроорганизмы играют значительную роль в превращении веществ в морях. И прежде чем мы сможем судить о продуктивности морей и океанов, должна быть изучена активность населяющих их микроорганизмов. Необходимой предпосылкой является наблюдение над бактериями в естественных условиях их существования.

Неоднократно рядом исследователей (Руссель, Буткевич, Бертель, Цобель и др.) указывалось на колебания числа бактерий в морях в зависимости от времени дня, так называемые «суточные колебания». Максимум бактерий в морской воде в большинстве случаев падает на вечерние, иногда утренние часы, минимум на ночные.

Не безинтересно, в связи с этим явлением, было установить факт суточных колебаний и наличия возбудителей бактериальных процессов и интенсивности этих процессов, имеющих место в морской воде. Подобные наблюдения были сделаны в бухте Золотой Рог, в г. Владивостоке, с борта шхуны «Россинанта» в октябре 1934 г. в течение одних суток.

Пробы брались с четырех горизонтов: 0,5 м, 5 м, 10 м и 13 м глубины — в 10 час. 30 мин. утра, 17 час. 30 мин. дня, 0,30 мин. ночи и 10 час. 30 мин. утра следующих суток, в одном и том же пункте бухты, по вертикальному разрезу. Количественный учет бактерий производился на «морском» и «пресном» мясопептонном агаре.

Изучение суточных колебаний, наличия и интенсивности различных бактериальных процессов производилось путем посевов 1—2 $см^3$ исследуемой воды на специальные среды для возбудителей бактериальных процессов круговорота азота, углерода и серы, как то: аммонификации, денитрификации, аэробной и анаэробной фиксации азота, нитрификации, анаэробного и аэробного разложения клетчатки, окисления тиосоединений, восстановления сульфатов.

Все среды были приготовлены ex tempore на морской воде из бухты. Мясопептонный агар, приготовленный на морской воде, имел pH, равный pH морской воды в бухте, т. е. 8,3. На этом специальном агаре преимущественно должны были расти специфические морские формы. Посевы выращивались при 22° и счет колоний производился через 72 часа, обычный интервал, принятый большинством исследователей, работающих над морскими формами (Бедфорд, Ваксман, Цобель и др.).

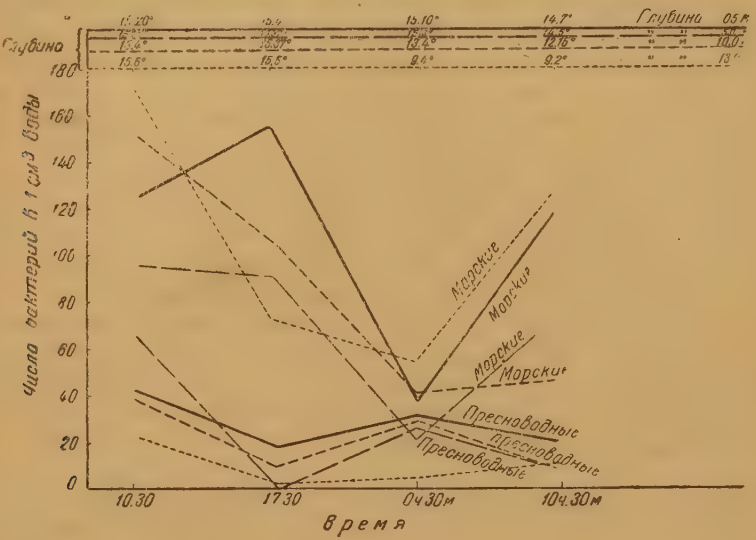
Пресный агар имел pH = 6,8—7,0 и предназначался для учета пресноводных форм бактерий, случайно попадающих в бухту в качестве загрязнений; учет последних производился, как обычно, через 48 часов выращивания при 25°.

В дальнейшем, принимая во внимание все изложенное, применяются наименования «морские» формы для видов бактерий, выросших на соленом агаре, и «пресноводные» формы для видов, выросших на пресном агаре.

Разница в посевах на пресном и морском агаре, как и предполагалось, сказалась и в количественном и в качественном составе микрофлоры разливок. Сверх того, кривые распределения числа бактерий «морских» и «пресноводных» оказались совершенно специфичны и почти диаметрально противоположны в каждом горизонте в одно и то же время дня.

Минимум «морских» бактерий во всех горизонтах падает на 0 час. 30 мин. Максимум для поверхностного горизонта (0,5 м) отмечен вечером в 17 час. 30 мин.; для остальных трех горизонтов максимум бактерий падает на утренние часы — 10 час. 30 мин.

Минимум «пресноводных» форм наблюдается в вечерние часы, с последующим максимумом в 0 час. 30 мин.; первый максимум «пресноводных» форм наблюдался в утренние часы.



Необходимо отметить некоторые изменения гидрометеорологических факторов, наблюдавшиеся в течение суток,— перемену ветра с ЮЗ в начале суток, на СЗ во второй половине суток — к 0 час. 30 мин. ночи и подток холодных морских струй на глубине 13 м; в связи с этим произошло общее понижение температуры воды, чем, вероятно, можно объяснить падение числа «пресноводных» форм бактерий в конце суток наблюдений.

Кривая колебания числа «пресноводных» бактерий зависит в основном от действия инсоляции. Значительно меньшее влияние имеет последний фактор на морских сапрофитов (Цобель); здесь, повидимому, большую роль играет температура, различная в различных горизонтах, но с явной тенденцией к падению числа бактерий с падением температуры (см. рис.). Исключение составляют пробы, взятые в 10 час. 30 мин.— это была последняя из проб, когда наблюдался подток холодной воды и, несмотря на понижение температуры, было обнаружено повышение числа бактерий.

Некоторая закономерность суточных колебаний соответственно отмечена и в ряде бактериальных процессов, как: аммонификация, денитрификация и восстановление сульфатов в зависимости как от глубины горизонтов, так и от времени дня. Процесс гниения в горизонтах на глубине 0,5, 10 и 13 м имеет тенденцию к максимуму в ночные часы. И только на горизонте 5 м глубины в эти часы наблюдалось отсутствие процесса гниения и соответственно отмечено наименьшее число бактерий на всех горизонтах.

Аммонификация идет активно на глубине 0,5 м без изменения круглые сутки. На глубине 5 м активность процесса возрастает от весьма слабой в утренние часы до энергичной к ночи и остается на этой высоте до конца суток наблюдений. На глубине 10 м аммонификация идет энергично в утренние часы, слегка падает к вечеру и снова возрастает к ночи с падением к концу суточных наблюдений. В придонном горизонте аммонификация непрерывно падает к ночи и возрастает к концу суток наблюдений, не достигая, однако, максимума.

Денитрификация имеет свои суточные колебания, причем в первых трех горизонтах на глубине 0,5, 5, 10 м от большей или меньшей интенсивности в начале суток падает до нуля к ночи (0 час. 30 мин) и возрастает до максимума в конце наблюдений. В придонном слое (13 м) денитрификация идет энергично в течение круглых суток.

Восстановление сульфатов отсутствует в поверхностном горизонте, что отмечается и для других морей рядом исследователей (Исаченко, Бейеринк), в остальных горизонтах отмечаются незакономерные колебания в наличии и интенсивности этого процесса в различное время дня.

Кроме этих, наиболее активно идущих процессов обнаружены: аэробная фиксация азота в первых двух горизонтах и анаэробная в придонном слое. В придонном горизонте обнаружена также и нитрификация.

Окисление тиосоединений обнаружено на глубине 0,5, 5 и 10 м в весьма активной форме.

При сопоставлении кривых нарастания и падения интенсивности бактериальных процессов с кривыми колебания числа бактерий намечается некоторая зависимость тех и других.

Так, при наличии падения числа бактерий во всех горизонтах в ночные часы отмечается и снижение активности некоторых процессов и даже отсутствие их. Для всех горизонтов, кроме придонного, выпадает в эти часы восстановление нитратов (денитрификация) — процесс, весьма широко распространенный в морях и наиболее активный (Брандт). Наименьшее число бактерий отмечено ночью для первых двух горизонтов, где наблюдается снижение интенсивности или даже полное отсутствие денитрификации в эти часы. В третьем горизонте (10 м) в ночные часы денитрификация отсутствует; несколько большее число бактерий можно отнести за счет энергично идущих процессов гниения, аммонификации и восстановления сульфатов. И, наконец, максимальное количество бактерий ночью отмечено в придонном слое, где в эти часы наблюдалось наибольшее количество бактериальных процессов, идущих весьма энергично.

Связь между количеством «пресноводных» бактерий и интенсивностью бактериальных процессов, повидимому, отсутствует. Относительно участия «пресноводных» форм бактерий в разложении веществ в морях в литературе имеются весьма противоречивые данные. С одной стороны, Коринек в ряде работ указывает на плохую выживаемость пресноводных бактерий в морской воде и, в связи с этим, их полную неактивность; Беркэ, с другой стороны, хотя и подтверждает ослабление речных бактерий в море, все же указывает, что часть этих бактерий участвует в разложении органических веществ в море. Наблюдения в бухте Золотой Рог скорее подтверждают наблюдения Коринека.

Все изложенное указывает, что существующая закономерность в колебаниях числа бактерий в морях, отмеченная рядом исследователей, подтверждается и суточными наблюдениями в бухте Золотой Рог в Японском море, и кроме того эти наблюдения устанавливают связь

между колебаниями общего количества бактерий и наличием и интенсивностью бактериальных процессов в море, одновременно намечая и зависимость этих явлений от некоторых гидрометеорологических и физико-химических факторов.

Тесная связь последних с наблюдаемыми явлениями — факт, требующий еще длительных и многократных наблюдений и изучений. Имеющиеся данные, устанавливая наличие самого явления, далеко не достаточны для окончательных выводов и требуют еще дальнейших исследований.

Выводы

1. Разность pH и соленость среды, как и соответственный период выращивания различных групп бактерий, дает возможность более или менее точно дифференцировать «морские» и «пресноводные» бактерии в море.

2. Кривые колебания числа «морских» и «пресноводных» форм бактерий в бухте в течение суток совершенно специфичны для каждой группы бактерий и обычно не совпадают в одни и те же часы.

3. Колебания количеств «морских» бактерий имеют определенную закономерность и стоят в некоторой зависимости от наличия и интенсивности тех или иных бактериальных процессов.

Получено 15. V. 1944

ON BACTERIA FOUND IN THE JAPANESE SEA

L. N. Gurfein

Summary

1. Difference in the pH values and in the salt content of the medium as well as a suitable period of growth for every different group of bacteria permit to differentiate with a certain degree of precision «pelagic» species of bacteria from «fresh-water» ones encountered in the sea.

2. The curves showing the variations in the numbers of «pelagic» and «fresh-water» bacterial forms in the bag-waters in the course of the day are perfectly specific for each group of bacteria and as a rule do not coincide at the same hours.

3. The variations in the numbers of «pelagic» bacteria follow a definite law and depend to a certain degree on the presence and intensity of some bacterial processes.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОЗЕР СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА

Ф. И. Копп и Е. Л. Лимберг

В районе государственного заповедника «Боровое» расположены многочисленные озера. По химическому составу их можно разделить на четыре группы.

Первая группа пресных озер — Боровое, Щучье, Котур-Куль и Чебачье, вследствие относительно большого размера их, характеризуется более или менее постоянным составом минеральных веществ, не превышающим 0,58 г/л. Ко второй группе относятся озера с большей минерализацией воды — выше 2 г/л. Это озера М. Чебачье и Кара-Куль. В третью группу может быть отнесено лишь одно озеро — Май-Балык, с ясной щелочной реакцией при pH = 8,4 и с еще более сильно выраженной минерализацией в 12,88 г/л. По составу вода озера Май-Балык очень близка к воде М. Чебачьего, но концентрация солей в ней значительно выше, причем она закономерно увеличивается — с 8,20 г/л в 1927 г. (Успенский) до 12,88 г/л в 1943 г. (Рейнгартен).

К последней, четвертой, группе относятся уже сильно минерализованные озера: Улкун-Сор, Балпаш и Майли-Сор. Эти озера являются хлоридно-сульфатно-натриево-магниевыми. Сумма минеральных веществ в воде озера Балпаш равна 158 г/кг рапы, в озере Майли-Сор 138,6 г. В связи с выпадением в осенние и зимние месяцы мирабилита минеральный состав этих озер значительно меняется.

По предложению акад. С. А. Зернова, авторы провели работу по выяснению микрофлоры 10 озер, наиболее типичных представителей из всего огромного количества озер района.

Настоящая работа является по существу лишь ориентировочной и далеко не полной. Тем не менее, даже приводимые в ней предварительные данные представляют известный интерес, тем более что, насколько известно, эти водоемы ни разу не изучались в отношении их микробиологической характеристики.

Следует вкратце упомянуть о методике работы. Пробы воды брались в стерильные бутылки темного стекла, как правило из поверхностного слоя, по возможности в средней части озера. При взятии проб отмечалась температура воды. В лаборатории производились посев воды на различные бактериологические среды и ее химический анализ. Пробы ила брались обычно лотом Воронкова. Посевы производились на среды, приготовленные на воде соответствующих озер.

Микробиологические исследования охватывали процессы фиксации азота, денитрификации, нитрификации первой и второй фаз, аммонификации, аэробного разложения клетчатки и, частично, восстановления сульфатов и окисления серы. Культуры выдерживались при комнатной температуре, которая колебалась от 9 до 18° зимой и от 20 до 24° — летом. Химические реакции и микроскопическое исследование культур производились через каждые 10 дней.

Накопление азота в культурах фиксирующих азот микроорганизмов определялось по методу Аселя. Появление нитритов в культурах нитрифицирующих обнаруживалось реактивом Грисса. Присутствие аммонийного иона — реактивом Несслера. Появление нитритов и последующее исчезновение нитритов и нитратов в культурах денитрифицирующих микроорганизмов устанавливалось реактивом Грисса и раствором дифениламина. Накопление в культурах аммонификаторов аммиака и сероводорода обнаруживалось с помощью полосок лакмусовой бумаги и бумаги, пропитанной уксуснокислым свинцом.

Были использованы следующие среды:

Для фиксирующих азот микробов: маннита — 2%; KH_2PO_4 — 0,02%, мела в избытке.

Для нитрифицирующих: I среда — $(NH_4)_2SO_4$ — 0,2%, KH_2PO_4—0,1%, $FeSO_4$— следы. II среда $NaNO_2$ — 0,1%, K_2HPO_4 — 0,5%, $Fe_2(SO_4)O_2$ — 0,04%.

При этом на дно (среда I) колб и стаканчиков насыпался прокаленный песок и углекислый магний.

Для денитрифицирующих микробов: KNO_3 — 2%, K_2HPO_4 — 0,2%, аспаратина — 0,1%, $FeCl_3$ — следы. Эта среда наливалась высоким столбом в длинные узкие пробирки, на дне которых находился прокаленный песок. Аммонификация исследовалась на пептонной воде (2% пептона) или на мясопептонном бульоне. Разложение клетчатки исследовалось только в аэробных условиях на растворе 0,1% K_2HPO_4 + 0,25% KNO_3, в который помещались полоски фильтровальной бумаги. На дне пробирок насыпался мел. Исследования начаты с октября 1942 г. и закончены в августе 1943 г.

Количественный учет микробов производился по следующей методике: на обезжиренное предметное стекло, на котором алмазом начерчен четырехугольник площадью 4 $см^2$, наносились, после тщательного перемешивания пробы, 0,04 мл исследуемой воды или ила в соответствующем разведении и равномерно распределялись по всей поверхности; после высыхания препарат фиксировался спиртом и окрашивался. Подсчитывалось 100 полей зрения и выводилось из них среднее на один миллиметр. Хотя этот метод страдает рядом недостатков, тем не менее он дал возможность получить сравнимые результаты.

Результаты исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

Количество бактерий в воде озер

Озера		Количество бактерий в 1 мм в тыс.	
		зимой	летом
Пресные	Боровое	29,5	69,5
	Щучье	36,2	182,0
	Большое Чебачье	37,7	395,6
	Котур-Куль	49,3	2 784,3
Слабо минерализованные	Малое Чебачье	15,4	24,5
	Кара-Куль	2 373,0	12 875,0
Сильно минерализованные	Май-Балык	26,6	45,2
	Балпаш	55,0	226,1
	Майли-Сор	47,4	226,1

Как можно видеть из табл. 1, резкой границы в количестве бактерий между пресными и солеными, сильно минерализованными озерами нет. Видно изменение количества микробов по сезонам, что связано с изменением температуры.

В микроскопических препаратах воды озер, перечисленных в табл. 1, преобладали бациллярные формы, кокковые встречены в небольшом числе, несколько большее количество кокков встречалось в озерах соленых.

В четырех озерах (Б. Чебачьем, М. Чебачьем, Кара-Куле и Май-Балыке) наблюдены скопления бактерий в форме зооглей. В воде озера Кара-Куль зооглеи находились в большом количестве во всех пробах воды, в остальных наблюдались реже и не в таком количестве. Зооглеи из озера Кара-Куль содержали от 16 до 94 бактериальных клеток и достигали размеров от 66 до 220 μ в поперечнике.

Морфологически бактериальные клетки различных зооглей отличались между собой: большие зооглеи состояли из мелких клеток, а более мелкие зооглеи — из крупных. По своим тинкториальным и морфологическим особенностям клетки мелких зооглей напоминали Azotobacter. Наряду с этими клетками в слизи этих же зооглей наблюдались мелкие палочки.

В связи с вышеуказанным обстоятельством выделение чистых куль-

тур представляло известное затруднение, тем не менее путем многократных пересевов и применения методов выделения культур из одной клетки удалось выделить чистые культуры, которые, действительно, оказались культурами Azotobacter с довольно значительной способностью к фиксации азота (табл. 2). Большие же зооглеи состояли из расположенных в слизи палочек, которые давали рост с образованием аммиака на мясопептонных средах. Ближе определить этих микробов не удалось.

Микробы, фиксирующие азот типа Azotobacter, выделены из зооглей воды озер Кара-Куль (культуры № 167 и 174), Май-Балык (№ 170 и 171), Б. Чебачье (№ 172) и при посеве воды из озера М. Чебачье (№ 1).

Таблица 2

Сравнительная способность культур к фиксации азота в мг/г маннита за 15 дней

Контроль	Культура			
	№ 167	№ 171	№ 172	№ 174
0,04	6,35	5,10	6,45	6,60

Зооглеи, состоящие из Azotobacter, обнаружены во всех пробах воды из озера Кара-Куль, причем они находились в большом числе в поверхностном ее слое. Клетки выделенных чистых культур были вполне типичны и давали характерный рост на соответствующих средах. Все они, за исключением выделенных из воды озера Май-Балык, были неподвижными и по своим морфологическим и культурным особенностям стояли ближе к Azotobacter vitreum Löhnis. Микробы же, выделенные из озера М. Чебачье, напоминали Azotobacter agile Beijerink.

При посеве воды перечисленных озер однажды удалось выделить Azotobacter непосредственно из воды, а не из зооглей, именно культура № 1 из воды озера М. Чебачьего в октябре 1942 г.

Зооглеи, состоящие из Azotobacter, обнаружены в октябре в озерах Май-Балык, Б. Чебачье и Кара-Куль. В летние месяцы на озере Май-Балык были поставлены предметные стекла, укрепленные вертикально в глубину от 20 до 120 см через каждые 10 см. Спустя неделю стекла были извлечены и на них обнаружено чрезвычайно большое число зооглей на глубине от 10 до 70 см.

Анаэробные фиксаторы азота группы Clostridium butyricum не обнаружены при посеве воды.

Нитрификация констатирована в относительно небольшом числе случаев — 14 из 90 посевов. Титры во всех случаях были низкие, в большинстве случаев 10 мл зимой и 1 мл летом, и только в двух случаях окисление происходило в титре 0,5, именно в озерах Котур-Куль и Май-Балык. При просмотре культур в них преобладали мелкие коккобациллы, располагающиеся группами вокруг частиц углекислого магния. Процессы денитрификации и аммонификации представлены на табл. 3.

Процессы денитрификации оказались во всех изученных озерах достаточно интенсивными и достигали в некоторых случаях титра 10^{-5} (озеро Кара-Куль в апреле 1943 г.) и 10^{-6} (Кара-Куль в июне 1943 г.). Процесс денитрификации только в 37 случаях из 164 доходил до газообразного азота. Ни в одном случае титр не был ниже 10^{-1}. В культурах преобладали мелкие, тонкие неспороносные палочки.

Гнилостные процессы с образованием аммиака также идут во всех изученных озерах очень энергично. Только в одном случае титр опустился до 10^{-1}, во всех остальных он выше 10^{-2}, а в ряде случаев, например в озере Боровое, достигал 10^{-5} зимой, летом же нередко наблюдались титры 10^{-6}. Таким образом гнилостные процессы летом значительно уси-

Таблица 3

Средние титры денитрификации и аммонификации при посевах воды

Озера	Средние титры денитрификации		Средние титры аммонификации	
	зимой	летом	зимой	летом
Боровое	10^{-2}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-6}
Щучье	10^{-2}	—	10^{-4}	10^{-5}
Большое Чебачье	10^{-2}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-5}
Котур-Куль	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-5}
Малое Чебачье	10^{-2}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-5}
Кара-Куль	10^{-4}	10^{-6}	10^{-4}	10^{-6}
Май-Балык	10^{-3}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-5}
Улкун-Сор	10^{-3}	—	10^{-3}	
Балпаш	10^{-3}	10^{-6}	10^{-3}	10^{-4}
Майли-Сор	—	10^{-3}	—	10^{-5}

ливались и титры увеличивались от 10 до 100 раз. Образование сероводорода на белковых средах наблюдалось значительно реже — всего 18 раз из 164.

Гнилостные микробы представлены преимущественно разнообразными палочками как неподвижными, так и подвижными, кокки и диплококки встречались реже. Стрептококки были наблюдены, например, в озере Котур-Куль как редкое исключение.

Илы были исследованы во всех перечисленных выше озерах. На 1 г сухого веса ила количество микробов колебалось от 270 тыс. до 1 031 тыс. Илы пресных озер характеризуются чрезвычайно большой энергией микробиологических процессов, даже зимой титр денитрификации колебался от 10^{-4} до 10^{-6}, а летом достигал 10^{-8}. Так же энергично происходили процессы аммонификации, титр которых колебался от 10^{-5} до 10^{-8}. Процессы нитрификации шли с меньшей энергией, в титре от 0,5 до 0,05. Azotobacter не был обнаружен ни в одной из проб ила, зато Clostridium butyricum наблюдался во всех пробах.

Аэробное разрушение клетчатки было обнаружено в титре 10^{-2} во всех озерах, кроме Б. Чебачьего зимой. Летом клетчатка разрушалась очень энергично в илах всех озер, в титре от 10^{-3} до 10^{-4}.

Илы солоноватых озер Кара-Куль, М. Чебачье и Май-Балык дали почти аналогичную картину. В течение зимних месяцев Clostridium butyricum обнаружен в озерах Май-Балык и Кара-Куль, летом же он был обнаружен во всех озерах. Нитрификация обнаружена во всех пробах, и титр процесса колебался от 10 до 10^{-2}. Денитрификация и аммонификация шли очень энергично, достигая даже зимой титра 10^{-7}, летом титр повысился до 10^{-9}. Разрушение клетчатки шло в более низких титрах, чем в пресных озерах, именно, 10^{-2} в соленых озерах и 10^{-3} в пресных. Из группы сильно соленых озер исследованы илы озер Майли-Сор и Балпаш.

Фиксирующих азот микробов в иле обоих этих озерах не обнаружено ни зимой, ни летом. Нитрификация в озерах Майли-Сор выражена сильнее, чем в озере Балпаш: титр в озере Балпаш 10, в Майли-Сор

10^{-2}. Процессы денитрификации также протекают более энергично в озере Майли-Сор, где их титр достигает 10^{-6}, а летом 10^{-5}, в озере же Балпаш 10^{-4}, летом 10^{-5}. Аммонификация также дает в озере Майли-Сор более высокие титры, чем в Балпаше (10^{-5} зимой, 10^{-7} летом). Разложение клетчатки шло в обоих озерах в одинаковых титрах (10^{-1} зимой, 10^{-2} летом).

В обоих этих озерах обнаружены многочисленные и разнообразные серобактерии, а при посеве на среды для обнаружения десульфурирующих микробов — также и последние.

В одной из проб озера Балпаш в июле было отмечено такое обильное развитие микробов, что вода представлялась заметно мутной; в этой пробе, кроме значительного количества серобактерий, обнаружено также громадное число спирилл, повидимому, Spirillum rubrum Esm.

Таким образом большой разницы в интенсивности микробиологических процессов между пресными и солоноватыми озерами не обнаружено. Сильно засоленные озера также обладают обильным и разнообразным микробным населением, несмотря на весьма большое количество солей и сильное колебание уровня воды.

Для выяснения вопроса, являются ли микробы соленых озер их постоянными обитателями или случайно попавшими из пресных вод, был поставлен ряд опытов с параллельным культивированием этих микробов на пресных средах и средах, приготовленных на воде озер соленых.

При посевах воды и илов соленых озер на среды, приготовленные на пресной воде, титры всегда получались значительно ниже титров при посеве на среды, приготовленные на воде соленых же озер. Можно предполагать, что микробиологические процессы в соленых озерах идут за счет главным образом галофильных, специфичных для данных озер, микроорганизмов.

Был поставлен опыт с посевом на среду для аммонифицирующих микроорганизмов со все повышающейся концентрацией солей до насыщения раствора, и титр процесса даже в высшей концентрации достигал величины 10^{-2}.

Данные изложенной работы почти полностью соответствуют данным, полученным из исследований зоо- и фитопланктона озер. Так, наиболее богатые в микробиологическом отношении озера Кара-Куль, Котур-Куль и Балпаш обладают и наиболее обильным планктоном.

Выводы

1. Аэробные фиксаторы азота могут, повидимому, встречаться в форме зооглей в планктоне как пресных, так и засоленных озер.
2. Процессы нитрификации в пробах из всех озер идут довольно слабо.
3. Денитрификация в пробах всех озер идет достаточно энергично.
4. Аммонификация, с выделением аммиака, резко выражена во всех озерах, особенно летом. Выделение сероводорода в культурах наблюдалось во всех озерах, но в значительно меньшей степени.
5. Процесс аэробного разложения клетчатки в илах исследованных озер наблюдался при посеве только от 10^{-1} до 10^{-3}.
6. Микробы круговорота серы встречаются главным образом в озерах Балпаш, Майли-Сор, Улкун-Сор.
7. По степени активности микробиологических процессов и по количеству микробного населения озера можно расположить в следующем порядке: Кара-Куль, Котур-Куль, Большое Чебачье, Балпаш, Боровое, Май-Балык, Малое Чебачье, Щучье, Майли-Сор.

Получено 16.IV.1945

MICROBIOLOGICAL IVESTIGATIONS OF LAKES OF NORTHERN KAZAKHSTAH

F. I. Kopp and *E. L. Limberg*

Summary

1. Aerobic nitrogen fixing microorganisms may be, it seems, encountered in the form of zoogloeae in the plancton of both fresh-water and salt lakes.

2. The processes of nitrification are very feeble in cultures obtained from all the lakes under study.

3. Denitrification is intense enough in samples from all the lakes.

4. Ammonification accompanied by ammonia production is very pronounced in all the lakes, especially in summer.

The production of hydrogen sulphide in cultures was observed in samples from every lake also, but to a much lesser degree.

5. The process of aerobic cellulose decomposition in the slimes of the investigated lakes was observed only if these were seeded in 10^{-1} to 10^{-3} dilutions.

6. The microbes involved in the metabolic exchange of sulphur were encountered mainly in the lakes Balpash, Maili-Sor, Ulkun-Sor.

7. The lakes may be ranged according to the degree of intensity of the microbic processes in them and to the numbers of their microbic population in the following series: Kara-Kul, Kotur-Kul, Great Chebachie Lake, Balpash, Borovoie, Mai-Balyk, Little Chebachie Lake, Shchuchie, Maili-Sor.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ НА ПОЙМЕННЫХ ОЗЕРАХ

З. Г. Разумовская и О. П. Зябликова

Проблема продуктивности водоемов тесно связана с круговоротом веществ, и поскольку разнообразные превращения по большей части протекают биологическим путем, то микробиологические процессы играют здесь исключительно большую роль. Микроорганизмы производят процесс минерализации органических соединений, продуцированных в водоеме, освобождая вещества для нового синтеза, и участвуют в превращении минеральных веществ. Эта деятельность микробов как минерализаторов тесно связана с накоплением различных продуктов обмена, которые в свою очередь не могут не влиять в той или иной степени на жизнь водоема. Эта роль микробиологических процессов особенно сильно сказывается в небольших пресноводных водоемах.

Исследования показывают [1], что микробиологические процессы в разнообразных по составу озерах иногда оказываются сходными по ходу и направлению и даже родовому составу микроорганизмов, но несомненно, что в ряде случаев в зависимости от особенностей озера будут наблюдаться своеобразные отличия микробной деятельности постоянного или временного характера.

Мы провели сравнительные микробиологические наблюдения ориентировочного характера над пойменными озерами левого берега Волги в Саратовской области. Эти водоемы, довольно значительные во время разлива Волги, постепенно усыхают, их особенности связаны, таким образом, с характером разлива, с одной стороны, и с другой стороны, обусловливаются местоположением, характером дна и иловых отложений, растительностью и т. д. Были взяты три озера.

Озеро Корчажный лиман

Озеро расположено на склоне террасы. Западный берег более высокий, восточный пологий. Форма озера вытянутая с севера на юг. Стоков в озеро нет. Глубина озера в центре 85 см, у берега 65 см. Наблюдается сильное зарастание озера, «цветет» сильно, но в короткий период, дно илистое.

Озеро Радьково

Озеро расположено в равнине, берега низкие, форма озера блюдцеобразная. Имеются стоки в озеро, вытекает река Мечетка, отгороженная плотиной. Глубина озера 0,9—1,2 м. Дно илистое. Большая растительность у берегов, в середине — поля ракушек. «Цветет» сильно и долго.

Озеро Песчаное

Озеро вытянуто в длину, видимо старое русло реки, глубина 2,75 м. Берега высокие, поросли кустарником, растительность только у берегов, много кувшинок. «Цветет» не сильно, но долго. Слабо проточное. Дно песчаное с прослойками ила.

В феврале 1943 г. в озере Радьково наблюдался зимний замор, причем анализы показали резкое снижение O_2 почти до 0 и большой подъем CO_2. При вскрытии проруби сильный запах сероводорода и обнаружены скопления гнилой рыбы и слизистые массы гладышей.

Наши наблюдения относятся к 1944 г. Зима с оттепелями. Снежный покров 15—25 см, толщина льда 30—35 см, лед прозрачный с пузырями газа. При вскрытии прорубей запах сероводорода. В Корчажном лимане признаки замора.

Данные гидрохимического анализа указаны в табл. 1.

Таблица 1

Анализ озер 20 января 1944 г.

Название озера	pH	Кислород		Свободная CO_2 в %	Окисляемость в мг/л
		в мл/л	в %		
Корчажный лиман	7,2	1,69	12	58,8	5,9
Радьково	7,4	7,07	43	74,4	13,8
Песчаное	7,5	7,24	49	60,7	11,2

Так как посевы воды и ила дали однотипные результаты, только более выраженные в илу, то приводим данные посевов ила, проведенные по методу предельных разведений на обычных средах по группам: гнилостных, разлагающих клетчатку, нитрифицирующих и десульфурирующих бактерий. Температура опытов 25°.

Таблица 2

Данные анализов на присутствие гнилостных бактерий на 1 г сырого ила

Название озера	Количество бактерий, выделяющих H_2S в тысячах	Количество бактерий, выделяющих NH_3 в тысячах
Корчажный лиман	1	100
Радьково	10	100
Песчаное	100	1 000

Нужно указать, что развитие бактерий в посевах из озера Песчаное наступало быстрее, через сутки было уже интенсивное развитие с образованием пленки, тогда как в посевах Радькова и Корчажного лимана такая картина наблюдалась на 3-й день. Микроскопические наблюдения показали, что в Корчажном лимане гнилостные микробы представлены главным образом спороносными формами (типа Bac. mycoides и Bac. mesentericus). В Песчаном же большое количество спороносных, но еще больше мелких бесспоровых палочек.

Таким образом гнилостный процесс выявляется во всех посевах, однако слабее в Корчажном и интенсивнее в Песчаном.

Процесс десульфуризации на среде ван Дельдена не наблюдался ни в одном посеве. Так как сульфатов в озерах почти нет, то, повидимому, сероводород в озерах получается за счет гнилостных процессов, протекающих в илу. Это, повидимому, наиболее вероятный путь накопления в случаях малого количества сульфатов и обилия органического вещества, как это указывает Кузнецов [2].

Разложение клетчатки в анаэробных условиях на среде Омелянского при 30° показало, что типичное анаэробное брожение прошло в посевах из озера Песчаного. Процесс начался через 6 дней. На фильтровальной бумаге появились прозрачные пятна, наблюдалось выделение газа, разложение шло интенсивно и на 10-й день на дне пробирок оставалась бесформенная масса разложенной клетчатки. Микроскопически наблюдалось развитие на волокнах бумаги тонких палочек с конечной спорой, сходных с бациллами Омелянского, сопутствуемых различными мелкими бесспоровыми палочками.

Такой характер разложения наблюдался при разведении 1/10. Боль-

шие разведения дают более замедленный рост, некоторую нерегулярность процесса и менее типичную картину.

В посевах ила озера Радькова наблюдалось образование пятен на бумаге, бумага в этих местах утончалась, появлялись просветы, наблюдалось выделение пузырьков газа. Количество таких пятен постепенно увеличивалось, но процесс шел медленно, через месяц бумага оставалась не разложенной. Микроскопически в местах разложения клетчатки наблюдались спороносные палочки типа Bac. cellulosae Омелянского. Разложение клетчатки наблюдалось при посеве ила с разведением 1/10.

В посевах ила Корчажного лимана на клетчатке в течение 3 мес. не наблюдалось изменений, среда мутнеет, приобретает желтоватый до буроватого цвет, микроскопически наблюдается обилие неспорообразующих палочек.

Аэробное разложение клетчатки на среде ван Итерсона в пробирках наблюдалось в первую очередь в посевах ила озера Песчаного. В течение первой недели наблюдалось образование желтого, оранжевого и буроватого пигмента, бумага на границе среды быстро разлагалась. Микроскопически наблюдались клетки Cytophaga, мелкие палочки и иногда вибрионы. Аналогичная картина в посевах озера Радькова: пожелтение бумаги, образование прозрачного слоя на бумаге, но процесс идет более медленно — до 1 мес. В то же время посев ила Корчажного лимана дает только следы развития и бумага остается неизменной долгое время.

Для наблюдения, как идет разложение растительного вещества в трех озерах, мы провели опыты с растениями. Из озера Корчажный лиман взяты водоросли, многократно промыты стерильной водой, внесены в пробирки по 0,5 г и залиты стерильной водой высоким слоем. Заражение проводилось илом, и пробирки закрывались резиновыми пробками. Опыт проводился при 30°.

В посевах ила Корчажного лимана через 7 дней жидкость в пробирках приобрела желтый, слегка буроватый оттенок, водоросли потемнели, но не изменились. Этот же характер наблюдался и через 2 мес. В посевах ила озера Радьково через 7 дней наблюдалось помутнение среды, выделение пузырьков газа. Вслед за этим на стенках пробирки и на поверхности растений выпал белый осадок мелкозернистый, напоминающий известняк. Жидкость стала прозрачной, и дальнейшего изменения в этих условиях не наблюдалось.

Иная картина в посевах озера Песчаного. Через 10 дней жидкость, сначала прозрачная, несколько мутнеет, водоросли темнеют, теряют форму, образуют комок на дне пробирки и через 2 мес. почти совсем разлагаются. В случае создания аэробных условий процесс разложения протекает лучше и наблюдался и в посевах из озера Радькова.

Таким образом процесс разложения растительного вещества в условиях опыта идет интенсивно только в озере Песчаном.

Процесс нитрификации на среде Виноградского в колбах скорее всего наблюдается в посеве из ила озера Песчаного, позднее возникает в посевах из озера Радькова.

Вторая проба взята 25 марта. В это время вскрывшиеся от льда озера обогащаются кислородом, который определяется: в Корчажном лимане 35%, Песчаном 58%, Радьково 52%.

Микробиологические процессы несколько интенсифицируются. Так, гнилостный процесс показывает количество бактерий до 10 мл для всех озер. Но основной характер остается тем же. Наиболее интенсивно идут процессы в озере Песчаном, наиболее слабо в озере Корчажный лиман.

Таким образом эти ориентировочные наблюдения показывают, что потенциальная способность микробиологических процессов в трех озерах наиболее благоприятно складывается в условиях озера Песчаного. Здесь

интенсивно протекают и разложение клетчатки и разложение водорослей. Это соответствует тем более благоприятным условиям, которые здесь создаются. Нет избытка органического вещества. Характер дна — ил с песчаными прослойками — способствует развитию микробиологических процессов (Роговская [3]). Посевы ила этого озера вызывают быстрый процесс разложения пептона, клетчатка энергично разлагается и аэробно и анаэробно, разложение растительного материала идет интенсивно. Потенциальная возможность всех этих процессов высокая.

Наиболее неблагоприятные условия складываются в озере Корчажный лиман.

В этом случае большая продукция органического вещества, которое не успевает разложиться и оседает на дно, образуя массу ила, и, видимо, вызывает накопление гумусовых веществ (вода озера имеет буроватый цвет и при посевах ила в питательные среды наблюдается побурение [1]), снижение кислорода, наблюдающееся даже в зиму с оттепелями, и пр. подавляют активность микрофлоры. Поэтому разложение клетчатки и растительного вещества в условиях опыта почти не идет. Сохраняется, однако, способность процесса разложения пептона. Промежуточное положение занимает озеро Радьково.

Таким образом условия, создающиеся в водоеме, оказывают влияние на характер микробиологической деятельности и изменение этой деятельности будет связано с изменением условий.

Снижение кислорода наиболее резко выражено в озере Корчажный лиман, где микробиологические процессы наименее интенсивны. Это вызывает предположение, что здесь имеют место химические процессы, вызванные накоплением веществ неполного разложения органических соединений.

Выводы

Проведены ориентировочные микробиологические наблюдения на трех озерах поймы Волги, отличающихся по характеру зарастания, цветения дна и т. д. Посевы ила этих озер дают несколько отличный ход микробиологических процессов. Проведены посевы на разложение пептона, клетчатки, нитрификацию, десульфуризацию и поставлен опыт разложения растительного вещества. Первые пробы взяты в подледный период. При вскрытии прорубей наблюдался запах сероводорода. В опытах процесс десульфуризации не проходил, следовательно, можно предполагать, что накопление сероводорода связано с гнилостным разложением. Этот процесс наблюдался во всех посевах, количество бактерий, определенное по методу разведений в зимний период от 100 до 1 млн., достигало весной 10 млн. на 1 г сырого ила. Процессы разложения клетчатки аэробно и анаэробно интенсивно протекали в посевах ила озера Песчаного и почти не шли в посевах ила озера Корчажный лиман. Озеро Радьково занимало промежуточное положение. Аналогично шел процесс разложения растительного вещества. Эти данные говорят о том, что условия водоемов влияют на потенциальную возможность микробной деятельности.

Получено 10.IV.1945

[1] Гумусовые вещества указываются как задерживающий фактор разложения в работе Хартулари [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Исаченко Б. Л. Микробиология в СССР за 25 лет. Микробиология, т. XI, вып. 5—6, стр. 10, 1942.
2. Кузнецов С. И. Круговорот серы в озерах. Микробиология, т. XI, вып. 5—6, стр. 218, 1942.
3. Роговская Ц. И. К вопросу о роли донного ила в процессе самоочищения водоемов. Микробиология, т. V, вып. 4, стр. 503, 1936.
4. Хартулари Е. М. Бактериологические и биохимические исследования ряда подмосковных озер. Тр. Лимн. ст. в Косине, т. 22, стр. 115, 1939.

MICROBIOLOGICAL INVESTIGATIONS OF FLOOD-PLAINS LAKES

Z. G. Razumovskaia and *O. P. Ziablikova*

Summary

Preliminary microbiological observations have been made by the authors on three lakes of the Volga flood-plain differing from each other in the character of vegetation, blooming at their bottom, etc. Cultures from the slime of these lakes show a somewhat differing sequence of microbiological processes. Test seedings for the decomposition of peptone, cellulose, nitrification tests, desulphurizing tests and a special test with the decomposition of vegetable matter have been made. The first samples were taken during the latest period. When the ice was broken there was a smell of hydrogen sulphide. In the laboratory tests the process of desulphurization did not take place, consequently it may be assumed that the accumulation of H_2S is bound with putrid decomposition. This process was observed in every culture. The numbers of bacteria, according to counts made with the dilution method, equalizing 100—1000 thousand during winter reached 10 millions per 1 g of wet slime in spring. The processes of cellulose decomposition both under aerobic and anaerobic conditions were intense in the cultures from the slime of Lake Peschanoie and almost nil in those from the slime of Lake Korchazhny Liman. Lake Radkovo occupied an intermediate position. The process of decomposition of vegetable matter showed an analogous trend. These results indicate that the conditions prevailing in a water-reservoir influence the potential possibilities of microbic activity.

НОВАЯ ЖЕЛЕЗОБАКТЕРИЯ РЕКИ ЕНИСЕЙ

В. О. Калиненко

Господствующий второе столетие морфологический метод исследования железобактерий из природных проб, без изоляции в чистые культуры, не дает достоверного ключа для определения видов.

Не зная границ изменчивости, циклов и стадий развития, влияния возраста и питательной среды на строение железобактерий, никто не может сказать, является ли данная нить, вынутая из железистого водоема, родственной рядом лежащей нити. К общеизвестным трудностям определения бактерий вообще добавляется для железобактерий полное игнорирование метода биохимического изучения чистых культур. У железобактерий видят только одно свойство — собирание железа в природе. Однако обычно не замечают обитания их в безжелезистых водах и биохимической деятельности клеток, не связанной с окислением марганца и железа.

При сравнительном исследовании чистых культур лептотриксов открылось следующее:

1) железобактерии имеют разнообразные биохимические способности;

2) каждый вид обладает индивидуальным набором ферментов;

3) виды отличаются друг от друга формой колоний;

4) они образуют неодинаковые зооциты-швермеры, с особым у каждого вида расположением ресничек;

5) характер роста на жидких средах у лептотриксов различен;

6) размеры клеток при всех комбинациях сред устойчиво отличают один вид лептотрикса от других.

Таким образом можно положить начало списку железобактерий — лептотриксов, строение и биохимизм которых исследованы в чистых культурах.

Это заставит новых наблюдателей идентифицировать только чистые штаммы по обычным требованиям морфолого-биохимического сравнения. Так как я первый начал этот более трудный, но зато и более плодотворный путь, я решаюсь дать собственные названия нескольким лептотриксам и перехожу к описанию одного из них.

Строение Leptothrix Issatchenkoi

Эту оригинальную нитчатую железобактерию, найденную в реке Енисей, я предлагаю назвать именем Б. Л. Исаченко.

Чистую культуру Leptothrix Issatchenkoi я получил с пластинок лимоннокислого агара по способу, описанному раньше (Калиненко [2]).

L. Issatchenkoi является мощным адсорбентом всех растворимых форм железа: окисных и закисных, органических и минеральных. Его гигантские колонии на жидких средах, богатых железом, имеют вид толстых ржавых лепешек. В отсутствии железа L. Issatchenkoi, как и другие железобактерии, образует бесцветные нити, в массе своей напоминающие клочки ваты. Описание L. Issatchenkoi начнем с агаровых колоний, строение которых является одним из видовых отличий у лептотриксов.

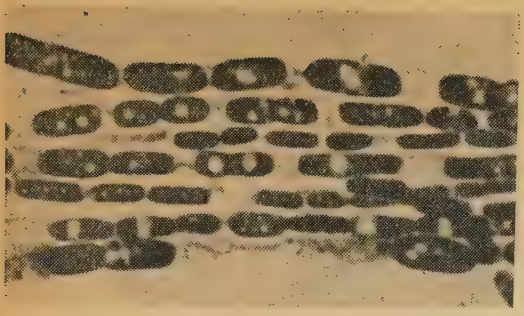


Рис. 1. Общий вид нитей L. Issatchenkoi из чистой 5-дневной культуры на пептонно-железистой воде. Видна широкая изменчивость рядом лежащих нитей. Увелич. 2 500 раз

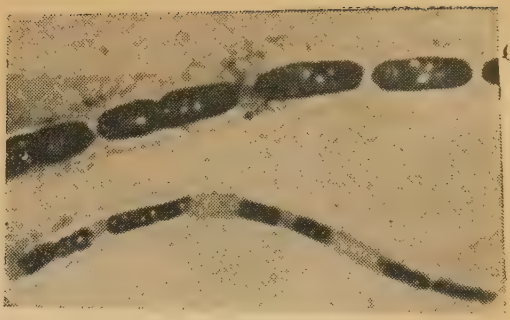


Рис. 2. Две нити из чистой культуры, сильно отличающиеся одна от другой своими размерами и формой

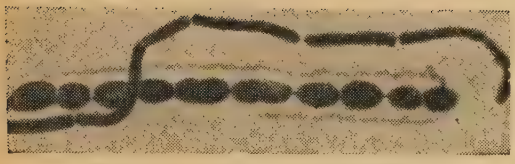


Рис. 3. То же, что и на рис. 2

Рис. 5. Препарат из чистой культуры, показывающий различное строение чехлов L. Issatchenkoi. Вокруг некоторых нитей чехол невидим, благодаря тонкости и прозрачности вещества, из которого он образован

Рис. 7. Генеративная нить L. Issatchenkoi. Увелич. 1 200 раз

Рис. 10. Генеративная нить, образующая округлые клетки (апланоспоры). Увелич. 1 200 раз

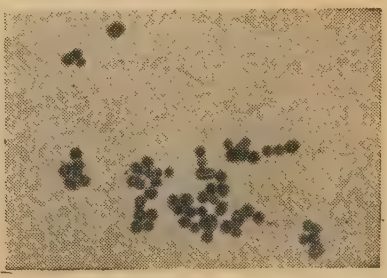


Рис. 11. Гонидии L. Issatchenkoi. Увелич. 2 500 раз

Надо заметить, что сравниваться могут только колонии, простирающиеся по поверхности агара. Глубинные же агаровые колонии у всех видов лептотриксов почти одинаковы. Для получения колоний небольшая часть петли чистой культуры растирается стеклянным шпателем Дригальского по неподсушенной поверхности двухпроцентного агара с аммиачным лимоннокислым железом.

Колонии L. Issatchenkoi на агаре состоят из отдельных цепочек, отчетливо разделенных на клетки. Кончики цепочек характерно закручиваются и складываются в клубочки. Чехол, облекающий всю цепочку клеток, чрезвычайно тонкий и совершенно гомогенный.

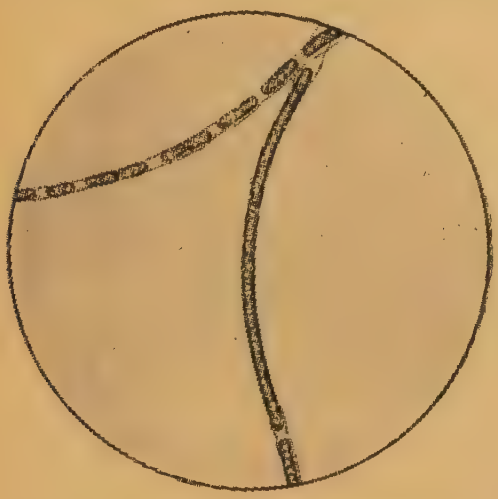


Рис. 4. Гигантская клетка L. Issatchenkoi. Увелич. 1 500 раз

Рис. 6. Утолщение на базальном конце генеративной нити

Из отдельных нитей агаровых колоний под бинокулярной лупой с 50-кратным увеличением можно захватить иглой или капилляром единичные клетки и перенести их на новую чашку. Этим путем удается получить культуру из одной клетки.

Перейдем к морфологии нитей.

Наиболее характерным свойством L. Issatchenkoi является его широкая изменчивость.

Очень часто в одном поле зрения энергично растущей культуры лежат цепочки клеток, не похожие одна на другую ни внешним видом, ни внутренним строением (рис. 1—4). Если бы применить в данном случае приемы Наумана [4], можно было бы из одной чистой культуры L. Issatchenkoi сделать не менее пяти новых видов железобактерий.

Клетки L. Issatchenkoi велики, сравнительно с L. ochacea, но еще надо заметить, что в том разнообразии форм и размеров, которые мы видим в чистой культуре, трудно назвать какую-нибудь форму клеток типичной. Они бывают узкими и длинными, короткими и толстыми, почти круглыми и, наконец, длинными и толстыми (рис. 1—4). В общем, поперечник самой толстой клетки раза в четыре больше, чем у самой тонкой. Длина же может отличаться в несколько десятков раз.

Бросается в глаза, что на протяжении одной и той же цепочки клеток можно найти все вышеперечисленное разнообразие. Что касается внутреннего строения клеток, здесь мы видим многие картины, вызванные отложением запасных веществ и, возможно, ядерным аппаратом клеток L. Issatchenkoi. Надо пожелать, чтобы было сделано специальное

цитологическое исследование этой интересной и сравнительно крупной железобактерии.

Варьируют не только очертания и размеры клеток, но и чехлы, создающие для нитей колониальную оболочку. У одних нитей чехлы представляют собой трубки, превышающие своим диаметром поперечник клетки. У других, рядом лежащих, нитей чехол настолько тонок и однороден, что при обычных приемах наблюдения и фотографирования невидим (рис. 5). Только расположение клеток цепочкой и гибкость нити свидетельствуют о существовании объединяющего их чехла. В тех же препаратах можно видеть чехлы, содержащие мелко гранулированные включения. Благодаря им вещество чехла приобретает тонкозернистую структуру. Эти факты заставляют вспомнить о L. ochraceae

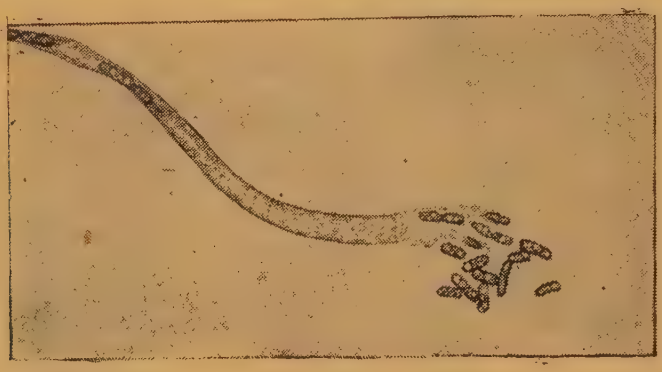


Рис. 8. То же самое, что на рис. 7. Видна масса зооцитов-швермеров, покидающих генеративную нить через открытый конец трубки

и L. crassa в описаниях Н. Г. Холодного. Эти два вида отличаются, по Н. Г. Холодному, главным образом строением чехла. При исследовании чистой культуры L. ochraceae я видел, что чехол этой железобактерии настолько изменчив, что его строением нельзя пользоваться для видовой диагностики.

В еще более отчетливой форме непостоянство строения чехла обнаруживается у L. Issatchenkoi. Чехол этого лептотрикса у одних нитей может быть толстым, мощным, у других — тонким, почти невидимым, вещество его — бесструктурным и у рядом лежащих нитей — зернистым.

Перейдем к описанию одной из стадий L. Issatchenkoi, до сих пор никем не подмеченной у всей группы лептотриксов. Речь идет о формировании специальных нитей, продуцирующих зооцитов-швермеров. Мне кажется, их можно назвать генеративными нитями, так как они дают начало изолированным подвижным клеткам, образующим затем новые нити. Базальный конец генеративных нитей имеет расширение — постамент (рис. 6).

Генеративные нити развиваются в трех-пятидневной культуре L. Issatchenkoi на пептонно-железистой воде. Они представляют собой трубки различной длины. Один конец трубки замкнут базальной клеткой, которая, не покидая своего места, отделяет дочерние клетки, устремляющиеся к открытому концу трубки. Отсюда зооциты-швермеры выходят в окружающую среду целыми группами (рис. 7—8). Зооциты-швермеры вооружены двумя симметричными жгутиками, сидящими на одном конце клетки. В темном поле хорошо видна мощная вибрация этих органов движения зооцитов (рис. 9).

Я неоднократно наблюдал, что из зооцитов образуются обычные нити, замкнутые в чехол. Путем деления зооцит образует цепочку клеток, продолжающую немного двигаться, благодаря ресничкам, сохраняю-

шимся у материнской клетки на одном из ее полюсов. Длина генеративных нитей различна. Иногда они целиком вмещаются в фокус при исследовании их с иммерсионными объективами; в других случаях они простираются на несколько сот микронов.

Перейду к рассмотрению особой стадии, несколько напоминающей генеративные нити, но продуцирующей не массу зооцитов, а единичные клетки. Особенностью их является неподвижность и округлая форма, которую они приобретают тотчас по выходе из генеративной трубки. Для этих клеток, которые, может быть, надо назвать апланоспорами, характерна компактность внутреннего содержимого и сильная окрашиваемость основными красками (рис. 10). При сравнении подвижных палочковидных зооцитов с круглыми неподвижными клетками (апланоспорами) возникает предположение о возможной половой дифференциа-

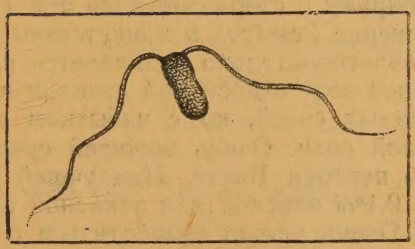


Рис. 9. Зооцит-швермер L. Issatchenkoi. Увелич. 2 500 раз

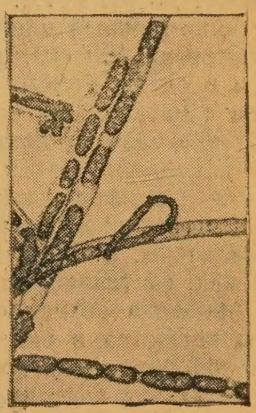


Рис. 12. Миграции отрезка нити через стенку чехла

ции. Эта возможность, должна быть еще доказана дальнейшими наблюдениями.

Одной из форм развития L. Issatchenkoi являются превращения одиночных клеток. Процессы идут в двух направлениях: 1) крупные палочковидные клетки путем деления распадаются на мелкие кокковидные элементы; 2) эти шаровидные микроциты (гонидии) вырастают и вытягиваются в палочки. Между шаровидными клетками происходит слияние, увеличивающее их размеры.

Но бывает и наоборот: от этих мелких кокков отделяются еще более мелкие шарики, напоминающие отшнуровывание редукционных телец.

В культуре L. Issatchenkoi встречаются массами кокковидные клетки, происходящие из палочковидных. Они возникают как из клеток, освободившихся после лизиса чехлов, так и из клеток, еще замкнутых внутри студенистых трубок-чехлов (рис. 11). У L. Issatchenkoi я наблюдал своеобразное явление: выхождение клеток сквозь стенку чехла. Этот процесс требует от клетки приложения силы для разрыва стенки трубки. Клетка при этом изгибается в виде петли и выходит наружу из чехла (рис. 12). Чехлы, покинутые клетками, лежат массами в виде пустых трубок, сохраняют свою эластичность и цилиндрическую форму.

Остается сказать об involюционных формах в старых культурах L. Issatchenkoi на водопроводной воде с кальциевой органической солью и нитратным азотом. На концах нитей образуются вздутия. Внутри нитей нет отчетливого и правильного обособления на отдельные клетки.

Биохимическая характеристика L. Issatchenkoi

L. Issatchenkoi, как и другие лептотриксы — железобактерии, адсорбирует своим студенистым чехлом из окружающего раствора железо любой валентности.

Отсутствие в среде железа не отражается на строении клеток и оболочек, но влияет на окраску и вес культуры. Мои попытки выращивать L. Issatchenkoi на минеральной среде без органического вещества в присутствии закисного железа in statu nascendi не имели успеха. На среде следующего состава: воды водопроводной — 100 см³, лимоннокислого кальция — 2 г, KNO_3 — 0,2 г, K_2HPO_4 — 0,01 г. L. Issatchenkoi в аэробных условиях энергично вызывает образование нитритов. L. Issatchenkoi быстро разжижает желатину следующего состава: воды питьевой — 100 см³; желатины — 5 г. Среда подщелачивается нормальным раствором NaOH до pH = 7,2. Инкубация при $t = 25°$. L. Issatchenkoi гидролизует крахмальный клейстер, приготовленный следующим образом: воды питьевой 100 см³, по нескольку миллиграммов KNO_3; $(NH_4)_2SO_4$; K_2HPO_4 и следы $FeSO_4$.

Вода с названными солями доводилась до кипения, и в этот момент в колбу вносился на кончике ножа углекислый магний. Происходило бурное вскипание. Затем вливалась болтушка картофельной муки, варился клейстер, разливался по пробиркам и стерилизовался при 110°.

L. Issatchenkoi вызывает покраснение лакмуса в присутствии глюкозы и мальтозы. L. Issatchenkoi удовлетворительно развивается на многих средах, составленных на питьевой воде с добавкой десятых и сотых долей процента обычных органогенных солей, но с избытком органического вещества в виде кальциевой соли. Очень хорошей средой является водопроводная вода с 1,5% пептона Витте. Наилучшей средой оказывается эта пептонная вода с 0,1% окисной или закисной аммиачной соли лимоннокислого железа. Очень важно позаботиться о слабощелочной (pH = 7,2) реакции употребляемых питательных растворов.

Итак, гетеротрофное питание L. Issatchenkoi показывает, что типичные железобактерии являются не узко-специализированными микроорганизмами, потребляющими энергию закисного железа, но обычными гетеротрофными бактериями, обладающими биохимическим аппаратом, обеспечивающим их жизнь в природе, независимо от присутствия или отсутствия железа. Адсорбция железа является побочным свойством студенистых оболочек этих нитчатых бактерий, аккумулирующих все растворимые формы железа: закисные, окисные, органические и минеральные.

Лаборатория океанологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 17. XII. 1944

ЛИТЕРАТУРА

1. Исаченко Б. Л. Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря. Тр. Арктическ. ин-та, т. 82, стр. 7—46, 1937.
2. Калиненко В. О. Выделение чистой культуры Leptothrix ochracea. Микробиология, т. IX, вып. 6, 1940.
3. Калиненко В. О. Строение и физиология Leptothrix ochracea. Микробиология, т. X, вып. 4, 1941.
4. Naumann E. Untersuchungen über die Eisenorganismen Schwedens. Kungl. Svenska Vetenskaps. Hand. I, Bd. 62, Teil 4, 1921.

СОДЕРЖАНИЕ

Борис Лаврентьевич Исаченко . . . 209
Л. И. Курсанов. Понятие о виде у низших растений 210
Н. Г. Холодный. О воздушном питании почвенных микроорганизмов 215
А. А. Имшенецкий и Л. И. Солнцева. О несовершенных формах миксобактерий 220
Н. А. Красильников. Прививка новых свойств вирулентности клубеньковым и некоторым неклубеньковым бактериям 230
Е. Н. Мишустин и О. И. Васильева. Термофильные микроорганизмы почвы и причины, вызывающие их распространение . 237
М. Н. Мейсель и Т. М. Кондратьева. Хондриосомный аппарат в клетках низших растительных организмов 244
С. И. Кузнецов. Биологический метод оценки богатства водоема биогенными элементами 248
Г. Л. Селибер. К вопросу об образовании углеводородов из жиров микроорганизмами 254
Л. Д. Штурм и З. А. Канунникова. Распределение микроорганизмов в пресноводных иловых отложениях 260
А. А. Егорова и Л. В. Ярмолюк. Опыт двадцатитрехлетнего поддержания свечения бактерий 265
А. Е. Крисс. Микроорганизмы восточной части Северного Ледовитого океана 268
Л. Н. Гурфейн. О бактериях в Японском море. Суточные колебания количественного и качественного состава бактерий в воде бухты Золотой Рог (Владивосток) 277
Ф. И. Копп и Е. Л. Лимберг. Микробиологические исследования озер Северного Казахстана . 281
З. Г. Разумовская и О. П. Зябликова. Микробиологические наблюдения на пойменных озерах 287
В. О. Калиненко. Новая железобактерия реки Енисей 292

CONTENTS

B. L. Issatchenko 209
L. I. Kursanov. The conception of species in its application to lower plants 210
N. G. Cholodny. The aerial nutrition of soil microorganisms 219
A. A. Imšenecki and L. I. Solntzeva. On the imperfect forms of myxobacteria 229
N. A. Krassilnikov. Engrafting of new virulence characters to nodule and some other bacteria 236
E. N. Mishustin and O. I. Vassilieva. Thermophilic microorganisms of soil and the causes of their spreading 243
M. N. Meissel and G. M. Kondratieva. The chondriosome apparatus in the cells of lower plant organisms 244
S. I. Kusnetzow. A biological method for the evaluation of a water-reservoir's riches in biogenic elements 253
G. L. Seliber. Concerning the production of hydrocarbons from fats by microorganisms 259
L. D. Sturm and Z. A. Kanunnikova. The Distribution of microorganisms in fresh-water mud deposits 264
A. A. Egorova and L. V. Yarmoliuk. Preservation of the light producing ability of a bacterium for 23 years under laboratory conditions 267
A. E. Kriss. The microorganisms of the eastern part of the arctic ocean . . 276
L. N. Gurfein. On bacteria found in the Japanese Sea 280
F. I. Kopp and E. L. Limberg. Microbiological investigations of lakes of Northern Kazakhstan . . . 286
Z. G. Razumovskaia and O. P. Ziablikova. Microbiological investigations of flood-plain lakes . 291
V. O. Kalinenko. A new ferrobacterium of Yenissei river 292

В редакцию журнала «Микробиология» поступило большое количество работ для помещения в номер, посвященный 50-летию научно-общественной деятельности чл.-корр. АН СССР проф. Б. Л. Исаченко. Ввиду небольшого объема номера все статьи не могли быть помещены. Помимо опубликованных, были получены следующие статьи:

1. Л. И. Рубенчик — К характеристике сульфатредуцирующих бактерий.
2. Д. Б. Доливо-Добровольский — Изучение бактериофагии в процессах биологической очистки сточных вод.
3. А. Г. Родина — Бактерии горячих источников Ходжа-Оби-Гарм.
4. В. Л. Рыжков — Биохимические изменения при желтухе кок-сагыза.
5. А. Н. Белозерский — Полинуклеиновые кислоты в R- и S- формах Sarcina flava.
6. М. В. Федоров — Химизм фиксации азота азотобактером. Влияние на продуктивность азотофиксации наркотиков.
7. Н. В. Саенко — Симбиоз виноградных дрожжей в природе.
8. О Ю. Волкова и А. Л. Шинкаренко — К вопросу о механизме бактерицидного действия Тамбуканской грязи.

Указанные статьи будут напечатаны в ближайших номерах журнала.

Редколлегия

Цена 8 руб.